CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. IX. Band.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Prof. Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in H[illegible] Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsk**[illegible]

herausgegeben von

Dr. Oscar Uhlworm in Ber[illegible]

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in [illegible]

Zweite Abteilung. IX. Ban[illegible]

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriolo[illegible] und Pflanzenpathologie.

Mit 11 Tafeln und 62 Abbildungen i[illegible]

Jena,
Verlag von Gustav Fis[illegible]
1902.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 1. Juli 1902. **No. 1/2.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark. Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Herrn Prof. Dr. Emil Chr. Hansen

zum 25jährigen Jubiläum

am 1. Juli 1902.

Am 1. Juli 1902 sind 25 Jahre verflossen, seitdem Herr Professor Dr. Emil Chr. Hansen seine hochbedeutsamen Forschungen auf dem Gebiete der Gärungsphysiologie in

dem Carlsberg-Laboratorium zu Kopenhagen begann, Untersuchungen, welche seinen Namen weit über die Grenzen seines Vaterlandes bekannt gemacht und einen hochbedeutsamen Fortschritt in der Biologie der Gärungsorganismen und damit der Gärungsindustrie überhaupt bedeuten. Der Unterzeichnete, dem die Ehre zuteil geworden ist, den hochverdienten Jubilar zu den Mitherausgebern dieser Zeitschrift zählen zu dürfen und der in mehr wie 20jähriger redaktioneller Thätigkeit sehr viele Beweise der Freundschaft und des Interesses seitens des Herrn Professor Hansen erfahren hat, will die Gelegenheit nicht vorbeigehen lassen, zugleich mit im Namen der Verlagshandlung zum Jubiläumstage die herzlichsten Glückwünsche darzubringen. Möge es dem verdienstvollen Forscher, meinem treubewährten Freunde, noch viele Jahre vergönnt sein, in voller geistiger Frische weiter zu arbeiten an dem Ausbaue seines Lebenswerkes, welches seinem Namen auf alle Zeiten einen Ehrenplatz in der Wissenschaft gesichert hat.

Berlin, den 29. Juni 1902.

Dr. **Oskar Uhlworm.**

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien.

Von **M. W. Beijerinck** und **A. van Delden** in Delft.

Früher[1]) wurde gezeigt, daß in Nährlösungen, welche nur Spuren von Stickstoffverbindungen, jedoch die übrigen Nährstoffe in genügender Menge, und zwar den Kohlenstoff als Kohlehydrat enthalten, bei der Infektion mit Gartenerde, oder mit anderen fruchtbaren Bodenarten bei reichlichem Luftzutritt üppige Kulturen von einer charakteristischen Bakterie, Azotobacter chroococcum, entstehen, welche bald dadurch über alle anderen nebenbei wachsenden Arten derweise den Vorrang gewinnt, daß die gesamte neugebildete Bakterienmasse daraus vorwiegend, wenn auch nicht gänzlich, bestehen kann. Es stellte sich heraus, daß bei diesem Versuche eine reichliche Bindung von freiem atmosphärischen Stickstoff stattfinden kann.

Fortgesetzte Beobachtungen lehrten, daß Chroococcum in Reinkultur in jener stickstoffarmen Nährlösung nicht zu einer beträchtlichen Stickstoffassimilation Veranlassung giebt (Versuche 31 a, 31 b und 31 c), sondern daß dessen Wachstum und Vermehrung darin bald aufhört, trotzdem die Kohlenstoffquelle noch lange nicht erschöpft ist. Es mußte also die Vermehrung von Chroococcum in den Rohkulturen, welche mit dem vollständigen Verbrauch der Kohlenstoffnahrung und mit Stickstoffbindung einhergeht, auf der Symbiose mit anderen Mikroben beruhen.

Es stellte sich heraus, daß diese für Chroococcum notwendigen Symbionten Bakterien sind, welche zu zwei Gruppen gehören: Sporenbildner aus der Gattung Granulobacter und nicht sporenerzeugende Arten, wovon wir Ursache hatten, besonders zwei Formen ausführlicher zu untersuchen. Diese Formen sind einerseits der allbekannte Aërobacter aërogene und zweitens eine sehr formenreiche, noch nicht beschriebene Art, welche weiterhin Bacillus radiobacter genannt werden wird.

Alle Arten der Gattung Granulobacter, sowohl die aëroben wie die anaëroben besitzen an und für sich schon das Vermögen, den freien Stickstoff zu binden, doch zeigen sie erst bei der Symbiose mit Chroococcum in dieser Beziehung ihre Fähigkeit in Vollendung.

Dagegen kann Aërogenes an und für sich den freien Stickstoff sicher nicht binden und ebensowenig gelang es, dieses Vermögen für die Reinkulturen von Radiobacter nachzuweisen.

Bei der Symbiose mit Chroococcum müssen also entweder Aërogenes und Radiobacter die Assimilationsfähigkeit erlangen, oder es ist Chroococcum selbst, welches dann dazu

1) Centralbl. f. Bakt. etc. 2. Abt. Bd. VII. 1901. p. 561.

befähigt wird, oder sowohl die letztere als die ersteren Arten erhalten dadurch zugleich diese Fähigkeit.

Wir haben lange gemeint, daß nur Chroococcum allein bei der Symbiose das stickstoffbindende Agenz sein könnte. Doch sind wir gegenwärtig zu einer anderen Meinung gelangt und müssen annehmen, daß eben Radiobacter und Aërogenes dieses merkwürdige Vermögen bei der Symbiose erlangen. Für Radiobacter, welcher nahe mit Radicicola verwandt ist, erscheint diese Ansicht naturgemäß, doch müssen wir anerkennen, daß die Sachen für Aërogenes anders liegen. Wir selbst haben dann auch lange gezögert, die Stickstoffassimilation durch Aërogenes für möglich zu halten, besonders weil es durchaus nicht bei jedem Versuche gelingt, sich von der Realität dieses Vorganges zu überzeugen, wodurch wir veranlaßt waren, bei denjenigen Versuchen mit Aërogenes und Chroococcum, wo Stickstoffbindung thatsächlich stattfand, nach zufälligen Infektionen durch Granulobacter zu suchen. Da wir diese jedoch bei der genauesten Untersuchung nicht finden konnten, muß auch Aërogenes einstweilen als Stickstoffsammler bei der Symbiose mit Chroococcum betrachtet werden.

Bei dem Studium der Kombinationen zwischen den Granulobacter-Arten und Chroococcum stellte sich die folgende merkwürdige Thatsache heraus: Es kann die Anzahl der Granulobacter-Stäbchen, welche in den Nährlösungen genügen, um ein sehr üppiges Wachstum von Chroococcum zu bewirken, eine so geringe sein, daß sie mikroskopisch zwischen den Tausenden von Chroococcum-Zellen schwierig zu finden sind. Einerseits erscheint es dadurch ausgeschlossen, daß die Bedeutung der Symbiose mit Chroococcum für die stickstoffbindenden Bakterien ausschließlich in einer Herabsetzung des Sauerstoffdruckes durch das intensive Wachstum des letzteren gelegen sein kann, obschon es feststeht, daß diese Herabsetzung für die Stickstoffbindung, wenigstens für Granulobacter, sicher günstig ist. Andererseits muß daraus die wichtige Folgerung abgeleitet werden, daß das erste Assimilationsprodukt des freien Stickstoffs eine Stickstoffverbindung ist, welche in der Flüssigkeit außerhalb der erzeugenden Bakterien im freien Zustande vorkommt, und deshalb für alle diejenigen Mikroben oder anderen Organismen erreichbar ist, welche damit ihr Stickstoffbedürfnis befriedigen können.

Diese Regel muß allgemeine Giltigkeit besitzen. Sie trifft sicher zu für das durch Granulobacter erzeugte Produkt, welches durch Chroococcum aufgenommen und das Wachstum verwendet wird. Sie muß aber auch zutreffen für die durch Radiobacter erzeugte Stickstoffverbindung, denn bei dessen Symbiose mit Chroococcum in stickstofffreier Nährlösung findet zwar vorzugsweise Wachstum von Radiobacter selbst statt, jedoch wird darin auch ein so profuses Wachstum von Chroococcum beobachtet, daß es feststeht, daß auch diese Art darin eine Stickstoffverbindung disponibel findet. Es kann bei diesem Thatbestande kaum bezweifelt werden, daß die gleiche Regel für Aërogenes gelten wird.

Die Natur dieser aus dem freien atmosphärischen Stickstoff erzeugten Verbindung, worüber am Schlusse noch einige Betrachtungen vorkommen, konnte noch nicht festgestellt werden, doch ist mit dem Nachweis derselben die alte Theorie beseitigt, nach welcher das Bakterieneiweiß selbst das erste nachweisbare Assimilationsprodukt des Stickstoffs sein sollte, und die gegenwärtig herrschende Auffassung bezüglich der natürlichen Stickstoffanreicherung im Kulturboden muß dadurch ebenfalls eine Umwandlung erfahren.

Weil die Sporen, besonders von den aëroben Granulobacter-Arten, sehr resistent sind und selbst kräftiges Kochen gut überstehen, und weil schon eine mikroskopisch schwerlich nachweisbare Verunreinigung mit diesen Mikroben in den Chroococcum-Kulturen eine beträchtliche Stickstoffbindung veranlassen kann, müssen besonders die Kombinationskulturen mit den nichtsporenerzeugenden Arten genau überwacht und die Nährlösungen sorgfältig sterilisiert werden. Dieser Umstand war es, welcher veranlaßte, daß wir so lange geglaubt haben, daß überall, wo wir in den Chroococcumkulturen Stickstoffbindung beobachteten, solche versteckte Granulobacter-Keime gegenwärtig waren, welche trotz unserer Kautelen entweder aus den infizierten Reinkulturen von Chroococcum oder bei der Infektion aus der Luft in die Nährlösungen hinein gelangt waren. Doch konnten wir nach längerer Beschäftigung, wie gesagt, an der Richtigkeit unserer beschriebenen Beobachtungen nicht mehr zweifeln.

Das Vermögen, den freien Stickstoff festzulegen, geht bei allen Arten der Gattung Granulobacter leicht verloren durch fortgesetzte Kultur an der Luft, wie sie z. B. von selbst bei der Reinkultur auf festem Substrate vorkommt. Der Nachweis dieses Umstandes erscheint uns wichtig und veranlaßte, in die Tabellen manche Bestimmungen aufzunehmen, welche wegen der geringen Stickstoffbindung anders kaum in Betracht gezogen sein würden. Da dieselben jedoch immer Bezug hatten auf Kulturen, welche uns im Anfange, das heißt bei erster Impfung, sehr erheblichen Stickstoffgewinn ergeben hatten, war deren Aufnahme nicht ohne Interesse.

Der Verlust jener Funktion geht genau parallel mit dem Vermögen der bezüglichen Formen, beim Wachsen mit wenig Sauerstoff auszukommen, also mit ihrer Mikroaërophilie, — das Wort Anaërobiose kann hier nicht verwendet werden, weil es sich um Arten handelt, welche sehr gut an der Luft gezüchtet werden können. — Die Mikroaërophilie geht aber ebenfalls verloren durch Kultur bei vollem Luftdrucke.

Für Versuche über die Stickstoffbindung, wobei Granulobacter in Verwendung kommt, sind diese Bemerkungen von Wichtigkeit: Wünscht man viel Stickstoff zu binden, so ist es ratsam, die frisch isolierten Reinkulturen zu verwenden. Hierzu wird die Nährlösung mit pasteurisierter Gartenerde und Chroococcum geimpft; nach 2 oder 3 Tagen hat man eine profuse Kultur von Granulobacter + Chroococcum. Es wird hieraus abgeimpft auf Glukoseagar und die dadurch erhaltenen,

gewöhnlich weit umherkriechenden aëroben Granulobacter-Kolonieen werden ohne Verweilen für die Kombinationskultur verwendet. Wünscht man für Serienkulturen auf festem Substrate in Eprouvetten überzuimpfen, so geschieht dieses am besten mit Chroococcum zusammen, was wenigstens einigermaßen vor Degeneration schützt.

Auf die Variation von Chroococcum sowie auf diejenige der nicht-sporenbildenden Symbionten hat der Sauerstoffdruck einen ähnlichen Einfluß, jedoch liegen die Verhältnisse hier weniger deutlich und entziehen sich leicht der Beobachtung. Doch muß an dieser Stelle nachdrücklich hervorgehoben werden, daß Chroococcum eine sowohl in ernährungsphysiologischen, wie in anderen Beziehungen sehr veränderliche Bakterie ist, welche z. B. ihre bemerkenswerte Eigenschaft sich dunkelbraun färben zu können, innerhalb einer einzelnen Kolonie oft segmentweise verliert, so daß man schließlich eine Kolonie mit zahlreichen dunkeln und weißen Sektoren vor sich sieht. Diese Variationsverhältnisse erklären die unregelmäßigen, bei den Analysenrohkulturen gewonnenen Zahlen besser, wie das durch besondere Infektionen oder durch das Kulturverfahren hervorgerufene Artengemisch.

Wir können also kurz sagen, daß für die Stickstoffbindung ein bestimmter Accommodationszustand gegenwärtig sein muß, welcher Zustand sich vorfindet bei den bezüglichen Keimen, sowohl in der Erde selbst, wie in den durch das Plattenverfahren erhaltenen frischen Isolierungen, während derselbe in unseren, auf festem Substrate aërob geführten Kulturen mehr oder weniger schnell und mehr oder weniger vollkommen verloren geht. Bei der ununterbrochenen Ueberimpfung der Rohkulturen in den Nährlösungen kann aber die Konstanz erhalten bleiben.

Wie man sehen wird, schließt unsere Versuchsanstellung sich an diejenige von Winogradsky an[1]). Daß wir in mehreren Hinsichten zu anderen Ergebnissen gekommen sind wie dieser Forscher, liegt einerseits daran, daß wir die Anaërobiose, welche die Grundlage seiner Versuche war, bei einem Teile der unserigen eingeschränkt oder beseitigt haben, andererseits an der Einführung von Chroococcum, wodurch wir eine erhebliche Verbesserung des Kulturverfahrens, auch bei den Versuchen mit Anaëroben erzielten, und dadurch in günstigen Fällen doppelt soviel freien Stickstoff binden konnten, wie die höchsten Erträge, welche er bei seinem Verfahren gefunden hat.

1. Bakteriologisches Verhalten der Rohkulturen von Chroococcum.

Für die Rohkulturen kam die früher beschriebene Nährlösung: Leitungswasser 100, Mannit (oder Glukose) 2, K^2HPO^4 0,05 wieder in Verwendung. Damit wurden große Kolben mit flachem Boden

1) Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes. (Archives des sciences biologiques de St. Pétersbourg. T. III. 1895. N. 4.)

in dünner Schicht angefüllt, erst ca. 24 Stunden bei 28° C und weiter bei 23° C kultiviert. Die Kolben waren mit Baumwolle und Filtrierpapier mit Bleifaden verschlossen; oberhalb der dünnen Schicht der Nährlösung ist künstliche Lüftung überflüssig. Durch viele Versuche wurde sichergestellt, daß in den gefundenen Quantitäten Stickstoff nicht bemerkbar ist, ob die eintretende Luft wohl oder nicht durch Waschen mit Schwefelsäure von den Spuren von Stickstoffverbindungen gereinigt ist, was auch zu erwarten war auf Grund der kurzen Versuchsdauer und der sehr beträchtlichen assimilierten Stickstoffmengen. Auch gaben die schnell wachsenden und früh reifen Kulturen, worin der Zucker am ehesten verschwunden war, die besten Stickstoffausbeuten, was jedoch nicht für Reinkulturen gilt, welche im allgemeinen langsamer wachsen.

Die erste Impfung der Nährlösung geschieht mit frischer Gartenerde; bei den Ueberimpfungen braucht überhaupt keine Erde zugesetzt zu werden, doch beschleunigt ein kleiner Zusatz sterilisierter Erde zum Zwecke der Einführung einer kleinen Menge von Stickstoffverbindung das Wachstum stark. Schon nach der zweiten oder dritten Ueberimpfung sind die Amöben, Monaden und Infusorien beseitigt, und trotz des ziemlich komplizierten Bakteriengemisches behält die Kultur während aller späteren Ueberimpfungen, wie eine Serie von mehr als 40 derselben zeigte, einen sehr gleichmäßigen, ausnahmslos mit Stickstoffbindung gepaarten Charakter.

Diese ganze Serie von mehr als 40 Ueberimpfungen wurde in der Mannitlösung gehalten (100 Leitungswasser, 2 Mannit, 0,05 K^2HPO^4). Eine größere Zuckerkonzentration wie 2 bis 4 Proz. hat sich für die Stickstoffbindung nicht als günstig erwiesen; selbst wenn mehr als 2 Proz. verwendet werden, dauert das Verschwinden sehr lange. Aus der Mannitlösung kann in Glukoselösung (2 Glukose anstatt Mannit) übergeimpft werden und besonders dann ist die Stickstoffausbeute günstig. Jedoch kann eine fortgesetzte Ueberimpfung in der Glukosenährflüssigkeit nicht stattfinden, weil dadurch entweder das rasche Ueberhandnehmen von säurebildenden aëroben Bakterien, von Aërobacter-Formen oder von Buttersäureferment, alles weitere Wachstum zum Stillstand bringt. Die wichtigsten der aëroben Säurebildner aus Glukose sind eben die allgemeinsten aller Bakterien, nämlich die Fluorescenten (verflüssigende wie nicht verflüssigende) und die Aërobacter-Arten selbst. Ich muß darum betonen, daß die Verwendung unserer Nährlösung mit Mannit als Kohlenstoffquelle, worin nicht nur Chroococcum, welches unter allen Umständen, auch bei Gegenwart von Glukose ein kräftiger Alkalibildner ist, sondern auch die Fluorescenten nur Alkali erzeugen und die Buttersäurefermente schwierig oder nicht zur Entwickelung kommen, bei dieser Versuchsanstellung von prinzipieller Bedeutung ist und daß eben darauf die Einfachheit und Klarheit unserer Resultate beruht.

Wir haben dann auch unseren Kulturflüssigkeiten im allgemeinen keine Kreide zugesetzt, und in denjenigen Fällen, wo dieses, einer erwarteten Säurebildung entsprechend, wohl gethan

wurde, keine günstigen Resultate erzielt. Es muß selbst hervorgehoben werden, daß bei allen schnell ablaufenden Versuchen, wo eine große Stickstoffausbeute erfolgte, keine freie Säure außer Kohlensäure nachweisbar war [1]) und daß stets, wenn freie Milch- oder Buttersäure in merklicher Menge auftraten, was durch die Gegenwart von Kreide nur unvollständig vorgebeugt werden kann, die Stickstoffbindung nur eine mäßige war.

Allerdings ist die Rohkultur von Chroococcum imstande, ein wenig freie Säure zu Kohlensäure und Wasser zu oxydieren. Wenn Buttersäure vorliegt, geschieht dieses unter starker Braunfärbung der Chroococcum-Häute, wodurch solche Kulturen sofort kenntlich werden. Aber auch dann ist die Stickstoffausbeute nicht besonders günstig.

Dagegen zeigt die Entwickelung von Kohlensäure und Wasserstoff durch Granulobacter und Aërobacter, wenn nicht zugleich Säure entsteht, einen günstigen Verlauf der Stickstoffassimilation an. Oft werden dabei kleine Quantitäten Propyl- und Butylalkohol bemerkbar.

a) Die nichtsporenbildenden Begleiter von Chroococcum in den Rohkulturen.

Chroococcum erfüllt nach 3 oder 4 Tagen die ganze Masse der betrachteten Kulturflüssigkeit mit einem ziemlich durchsichtigen Bakterienschleim, worin man bei mikroskopischer Untersuchung viele sehr feine Stäbchen verschiedener Bakterien sieht, neben der plumpen und sofort kenntlichen Hauptart. Einen Einblick in das ziemlich bunte Artengemisch erhält man am schnellsten durch Aussaat einerseits auf Fleischbouillongelatine mit 3 Proz. Rohrzucker und Kultur bei 23^0, andererseits auf reinem Agar, gelöst in Leitungswasser, Wasser mit 2 Proz. Glukose und 0,05 Proz. K^2HPO^4.

Vermittelst des ersten Bodens, worauf Chroococcum gar nicht oder nur in ganz geringer Anzahl (als große wassertropfenähnliche Kolonieen) zur Entwickelung kommt, erkennt man bei der Aussaat der Rohkulturen, trotz deren lange fortgesetzter Ueberimpfung in der stickstoffarmen Nährflüssigkeit mehrere Bakterienarten, jedoch in sehr ungleicher Anzahl. Bei weitem am allgemeinsten ist eine eigentümliche, sehr veränderliche Bakterienart, welche für unseren Zweck interessant ist, weil damit nicht nur bei der Symbiose mit Chroococcum (Vers. 39—44) beträchtliche Ausbeuten an assimiliertem Stickstoff erhalten wurden, sondern auch deshalb, weil die Gegenwart derselben in einigen Kulturen von Granulobacter-Arten (Vers. 28, 29) auch bei Abwesenheit von Chroococcum zu Stickstoffassimilation führte.

Sie erzeugt kleine, schleimige, weiche oder zähe, weiße, nicht verflüssigende, unter allen Umständen Alkali bildende Kolonieen. Gewöhnlich findet man ein schillerndes Häutchen auf jeder Kolonie, was die Erkenntnis erleichtert, jedoch nicht sichert, weil ein ähn-

1) Natürlich könnte auch dann freie Säure gebildet sein, welche sofort durch die Mikroben oxydiert oder neutralisiert wäre.

licher Perlmutterglanz auf den Kolonieen von Aërogenes und Coli beobachtet wird. In alten Eprouvettenkulturen entsteht auf der Oberfläche von Fleischgelatine eine irisierende Haut infolge der Alkalibildung, und zwar neben dem Impfstriche, was auch bei vielen anderen Bakterien, z. B. aus der Fluorescens-gruppe, gesehen wird, aber eben bei Aërogenes und Coli nicht vorkommt, welche nur auf den Kolonieen selbst schillern. Der Glanz auf den Kolonieen kann aber fehlen und dann wird die Erkennung schwieriger. Ueberdies ist die Form und Größe der Kolonieen verschieden, und diese Verschiedenheit trägt erblichen Charakter. Ausgesät in Bouillon mit 0,02 Proz. Kaliumnitrit bemerkt man Denitrifikation, d. h. Schaumbildung durch freien Stickstoff. Diese Eigenschaft wäre sehr wertvoll für die Diagnose, wenn sie nicht in den Kulturen verloren gehen könnte. Der Verlust kam in meinen Kulturen nicht vor, als ich auf Fleischgelatine überimpfte, jedoch wohl bei der Aussaat in der stickstoffarmen Mannitlösung, und erst dann, als ich dieses wußte, erkannte ich die Allgemeinheit eben dieser Art, welche ich anfangs als ein Artengemisch betrachtet hatte. Auf dem Glukose-Agarkaliumphosphatboden werden die Kolonieen ziemlich groß, besonders, wenn in Kontakt mit Chroococcum, und sind dann schwierig zu unterscheiden von Aërogenes, weil beide wässerige, ziemlich durchsichtige Ränder um die Chroococcum-Kolonieen bilden, wenn mit diesen in Kontakt.

Sowohl die flüssigen Kulturen wie die Kolonieen bestehen aus beweglichen und unbeweglichen feinen Stäbchen. Besonders die beweglichen können außerordentlich klein werden und erinnern dann lebhaft an die Schwärmer von B. radicicola. Die unbeweglichen sind gewöhnlich größer, oft etwas gekrümmt und nicht selten zu sternartigen Ansammlungen vereinigt, ganz ähnlich den „Bakteriensternen“, welche ich früher ebenfalls für Radicicola beschrieben habe. Eben wie im letzteren Falle scheinen die sternartigen Ansammlungen hier durch einen eigentümlichen Verzweigungs- oder Teilungsmodus zu entstehen. Sie liegen vielfach, aber nicht immer, in einem dicken Schleime eingebettet. Oft fehlen sie gänzlich, und auch diese Veränderlichkeit erschwert die Erkennung dieser Art sehr. Wenn auch die Strahlenbildung durchaus nicht als eine konstante Erscheinung auftritt, halte ich das Vorkommen davon doch von morphologischem und systematischem Interesse und wählte darum für unsere Art den Namen B. radiobacter.

Findet Aussaat in Reinkultur statt in unserer stickstoffarmen Mannitlösung statt, so kann ein beträchtliches Wachstum eintreten, wodurch man den Eindruck bekommt, es könnte auf Stickstoffanhäufung geschlossen werden. Eine solche kann jedoch nur dann nachgewiesen werden, wenn zugleich Chroococcum in die Nährflüssigkeit gebracht ist. Findet in solchen gemischten Kulturen die Bildung eines zähen Schleimes statt, so bleibt das Chroococcum-Wachstum gering und auch dann konnte nur schwache Stickstoffassimilation beobachtet werden. Wenn dagegen das Bakteriengemisch weich und lose bleibt und, wie es dann immer der Fall

ist, vorwiegend aus Chroococcum besteht, ist dieses der Beweis, daß reichlich Stickstoff gebunden wird. In einem solchen Zustand verharrten z. B. die Kulturen der Versuche 43 und 44, wobei in einem Monat 70 mg Stickstoff pro Liter Kulturflüssigkeit gebunden war und 4 mg pro g verschwundener Mannit.

Gärung (außer Denitrifikation in Fleischbouillon mit 0,1 Proz. KNO^2) konnte bei Radiobacter nicht beobachtet werden, dagegen wohl ein größeres Maß von Mikroaërophilie bei der Kultur in zuckerhaltiger Nährlösung, wie wenn ohne Zucker kultiviert. Aus Zucker entsteht niemals Säure; dagegen wird unsere Kulturflüssigkeit durch Radiobacter immer schwach alkalisch. Organisch saure Salze werden mit großer Intensität zu Kohlensäure und Wasser oxydiert. Selbst Acetate ergaben sich als ernährungsfähig. Außerdem wurden mit positivem Erfolge Malate, Citrate, Propionate und Butyrate geprüft. Das Wachstumsoptimum liegt zwischen 25 und 27° C, doch ist Zimmertemperatur für die Stickstoffverbindung sehr geeignet.

Bei der Untersuchung der Aussaaten der Rohkulturen auf den Glukoseagarplatten trifft man sehr oft dünne, ebene, durchsichtige Kolonieen an, welche aus den großen kleisterartigen Chroococcum-Kolonieen hinauswachsen und zum Teil bis in ziemlich weite Entfernung. Sie können so durchsichtig sein, daß man sie erst nach genauer Betrachtung mit der Lupe bei durchfallendem oder reflektiertem Lichte erkennt. Anderenteils haben sie größere Vegetationskraft und liegen dann als etwas trübe Plättchen dem Agar angeschmiegt.

Mikroskopisch findet man darin kleine und dünne Kurzstäbchen, nur ganz vereinzelte davon beweglich. In allen Haupteigenschaften, wie in Bezug auf Enzymbildung und Ernährung besteht große Aehnlichkeit mit Radiobacter, nur ist es nicht gelungen, in Mischkulturen mit Chroococcum sicher Stickstoffbindung nachzuweisen, und ebensowenig konnte Denitrifikation beobachtet werden. Dennoch halte ich diese Bakterien für eine degenerierte Form von Radiobacter selbst.

Bei der Aussaat der Chroococcum-Rohkulturen auf Fleischgelatine mit Rohrzucker erkennt man nach einiger Uebung zwischen den Radiobacter-Kolonieen hier und dort, bisweilen selbst allgemein, zwei Formen von Aërobacter aërogenes[1]) und überdies Aërobacter coli. Das eigentümliche Schimmern der Radiobacter-Kolonieen wird auch bei diesen Arten gesehen, doch sind die Aërogenes- und Coli-Kolonieen gewöhnlich beträchtlich größer wie diejenigen von Radiobacter. Auch auf Würzegelatine wachsen sie leicht und viel üppiger wie Radiobacter und erzeugen dann oft Gasblasen. Da ich in Mischkulturen mit Chroococcum vermittelst Aërogenes eine schwache Assimilation von freiem Stickstoff erzielte[2]), will ich hier noch folgendes über diese Formen bemerken:

---

1) Bacillus lactis aërogenes.

2) Jedenfalls konnte, wie schon gesagt, weder mikroskopisch noch kulturell in diesen Mischkulturen irgend eine fremde Infektion erkannt werden.

Die in den Versuchen als Aërogenes 1 bezeichnete Varietät entspricht den gewöhnlichen Beschreibungen und erzeugt aus Rohrzucker neben Kohlensäure und Wasserstoff Milchsäure. In den Rohkulturen mit Glukose (Nährflüssigkeit 2) entsteht bei Gegenwart dieser Form soviel Säure, daß dadurch das Wachstum von Chroococcum ganz aufgehoben und damit nur in der Mannitlösung experimentiert werden kann. Die als Aërogenes 2 bezeichnete Form erzeugt in Rohrzuckerbouillon ebenfalls Kohlensäure und Wasserstoff, aber keine Milchsäure, sondern ein unbekanntes Alkali. In den Rohkulturen bleibt bei der Ueberimpfung diese Eigenschaft erhalten, doch gehen Gärkraft und Vermögen zur Alkalibildung schon nach zwei oder drei Ueberimpfungen bei der Reinkultur in Malzwürze verloren, wobei zu gleicher Zeit das Vermögen der Säurebildung entsteht. Hier liegt also ein typisches Beispiel von Accommodation an spezifische Ernährungsbedingungen vor. Ich muß hier noch bemerken, daß durchaus nicht jede willkürliche Isolierung von Aërogenes eine Form liefert, womit man zusammen mit Chroococcum Stickstoffassimilation erzielen kann, und daß selbst mit den angeführten Formen nicht alle Versuche gelungen sind, was zu einer wiederholten und genauen Untersuchung der wohl assimilierenden Kulturen veranlaßte, ohne daß es gelang, darin fremde Bakterien zu entdecken.

Wir hatten keine Ursache, aus den Rohkulturen noch andere Bakterienarten in Untersuchung zu ziehen; nicht daß wir durch die genannten Formen den ganzen Reichtum an diese Commensalen schon erschöpft hätten, sondern weil wir aus dem unregelmäßigen Vorkommen von vielen derselben schließen zu müssen glaubten, daß deren Bedeutung nur eine accidentelle sein könnte. Ganz bestimmt kann das z. B. behauptet werden in Bezug auf die Fluorescenten, wovon Fl. non liquefaciens nach zahlreichen Ueberimpfungen gänzlich verschwindet, während Fl. liquefaciens wohl nie verschwindet, aber oft nach einigen Transporten sehr zurücktritt, um dann aber plötzlich wieder einmal viel allgemeiner zu werden. Die große Schwierigkeit der Arterkennung bei den Bakterien schließt aber nicht aus, daß wir irgend eine wichtige Form übersehen haben, welche sich in der mehr speziell in Untersuchung gefundenen Hauptserie von mehr als vierzig Ueberimpfungen zufällig nicht vorfand. Doch muß ich hervorheben, daß zahlreiche andere kleinere Serien ebenfalls ziemlich genau bakteriologisch untersucht wurden und daß wir darin stets Radiobacter und Aerobacter neben Chroococcum erkannten.

b) Die aëroben sporenbildenden Granulobacterformen als Begleiter von Chroococcum in den Rohkulturen.

Die vorstehend besprochenen Begleiter von Chroococcum sind sporenfrei und werden in pasteurisierten Rohkulturen nicht angetroffen. Sowohl in den gewöhnlichen Rohkulturen, wie in solchen, welche dadurch erhalten werden, daß die Nährlösung zu

gleicher Zeit mit pasteurisierter Erde und Chroococcum geimpft sind, finden sich jedoch noch eine Reihe von Sporenbildern, welche, soweit sie auf die Dauer infolge ihrer Stickstoffassimilation bei den Ueberimpfungen standhalten, zur Gattung Granulobacter gehören. Dieselben sind meistenteils „aërob", doch gehören auch die sogenannten „anaëroben"[1] Butyl- und Buttersäurefermente hier her, welche jedoch im nächsten Paragraphen gesondert besprochen werden sollen. Die Worte „aërob" und „anaërob" verwenden wir hier im gebräuchlichen Sinne, doch muß bemerkt werden, daß alle Granulobacter-Arten mehr oder weniger „mikroaërophil" sind[1]), die Butyl- und Buttersäurefermente so stark, daß sie bei vollem Luftdruck gar nicht mehr wachsen, die übrigen in geringerem Maße, so daß sie zwar aërob isoliert und kultiviert werden können, doch vertragen sie den vollen Luftdruck auf die Dauer nicht gut und verlieren dabei mehr oder weniger ihre ursprünglichen Eigenschaften. Für die beweglichen Formen läßt die Mikroaërophilie sich hier besonders schön nachweisen, dadurch, daß sie sich in mikroskopischen Präparaten, nach Art der Spirillen, in einer vom Meniscus entfernten, einem geringeren Sauerstoffdruck entsprechenden „Atmungslinie" ansammeln.

Der Nachweis dieser Arten in den mit frischer Erde angestellten Rohkulturen ist gewöhnlich leicht, doch wird dieses in den Ueberimpfungen allmählich schwieriger, und nach vielen Transporten verdrängen Radiobacter und die anderen nicht sporenbildenden Begleiter von Chroococcum, Granulobacter so vollständig, daß dessen Nachweis unter dem Mikroskop mißlingt und selbst kulturelle Methoden nicht zu einem Resultate führen.

Dagegen gelingt deren Isolierung leicht, wenn man ausgeht von den oben in zweiter Linie genannten Methode der partiellen Rohkultur, welche darin besteht, daß die Mannitnährlösung zugleich mit pasteurisierter Erde und Chroococcum geimpft wird. Das Pasteurisieren geschieht durch Erhitzen auf 85° C der in Wasser suspendierten Erde während 5 Minuten. Sobald die bei 28° C geführten Kulturen dann eine gut entwickelte Chroococcumhaut zeigen, was beweist, daß die Stickstoffbindung in vollem Gange ist, werden Impfstriche gezogen auf Glukosephosphatagar[2]), also auf demselben Boden, worauf früher Chroococcum selbst isoliert wurde, und diese werden gleichfalls bei 28° C gestellt. Wir isolierten auf diese Weise 5 zu Granulobacter[3]) gehörige Formen, welche jede zusammen

---

1) Anaëroben im strengen Sinne des Wortes giebt es, wie ich anderswo gezeigt habe, überhaupt nicht, — auch die sogenannten Anaëroben bedürfen freien Sauerstoff.

2) Solche aus 2 g Agar, 2 g Glukose und 0,05 g K^2HPO^4 in 100 ccm Leitungswasser angefertigten Platten sind nach dem Erstarren in der Glasdose sehr feucht, darum werden sie in festem Zustande so lange vorsichtig und langsam erhitzt, bis ihre Oberfläche ganz trocken ist. Die wenigen auf diese Weise verdunsteten Wassertropfen kondensieren am Deckel der Glasdose und werden von dort abgewischt.

3) Für die Beschreibung dieser Gattung verweise ich auf meine Arbeit Sur la fermentation et les ferments butyliques. (Arch. Néerlandaises. T. XXIX. 1896. p. 10.)

mit Chroococcum Stickstoff anhäufen. Sie sind ziemlich nahe verwandt und können vielleicht auf ein oder zwei Arten zurückgeführt werden.

Es hat sich nämlich herausgestellt, daß die zuerst von den Rohanhäufungen isolierten Formen bei der fortgesetzten Ueberimpfung in den Reinkulturen ihren ursprünglichen Charakter mehr oder weniger vollkommen verlieren, wodurch Konvergenz der verschiedenen Formen zu einer Limitform stattfindet, welche jedoch durch keine derselben erreicht wird.

Die Ursache dieser Umwandelung ist darin zu suchen, daß der Druck des atmosphärischen Sauerstoffs auf die Dauer nicht von diesen Organismen vertragen wird, während alles, wodurch dieser Druck vermindert wird, auch die Abänderungsschnelligkeit verlangsamt. Dieses ist z. B. dadurch zu erreichen, daß die Reinkulturen von Anfang an zusammen mit stark aërophilen Arten, z. B. mit Chroococcum + Radiobacter, fortgeführt werden. Aber auch auf diese Weise kann der Umwandlung der ursprünglichen Eigenschaften nicht ganz vorgebeugt werden, so daß unter allen Umständen aus den Reinkulturen schließlich etwas Unähnliches entsteht.

Nach den verwandtschaftlichen Beziehungen lassen die 5 für unsere Versuche verwendeten aëroben Formen sich, wie folgt, anordnen:

Granulobacter polymyxa,
" " var. tenax.,
" " " mucosum,
" sphaericum,
" reptans.

Gr. polymyxa. Diese im Boden sehr allgemein verbreitete Art habe ich schon in meiner Abhandlung über die Butylalkoholgärung beschrieben[1]) und seitdem habe ich dieselbe sehr oft unter allerlei Bedingungen zurückgefunden. Wahrscheinlich ist B. solaniperda Kramer[2]) damit identisch oder eine ganz nahestehende Varietät. In Malzwürze wird durch Polymyxa eine kräftige und lange dauernde Gärung verursacht, wobei eine schleimige Kultur entsteht, die sich durch das beinahe gänzlich aus Kohlensäure zusammengesetzte Gärungsgas stark aufbläht und sich mit einer zähen, lange haltenden Schaumschicht bedeckt. Dieser Schaum besteht aus beweglichen Stäbchen und aus sporenführenden, schmalen Clostridien, welche nur wenig Granulose enthalten. Er erzeugt auf Würzegelatine zunächst durchsichtige, dünn aufliegende Kolonieen, welche später energisch verflüssigen und dann B. mesentericus vulgatus sehr ähnlich sind.

Ich habe diese Art seit vielen Jahren als einen gewöhnlichen Aëroben fortkultiviert und eben mit einem solchen alten Stamme bei der Symbiose mit Chroococcum regelmäßig eine merkliche Stickstoffbindung beobachtet (Versuch 45), während die Reinkultur

1) Fermentation et ferments butyliques. (l. c. Mit Abbildung.)
2) Migula, System der Bakterien. Bd. II. 1900. p. 573.

ohne Chroococcum in der stickstofffreien Nährlösung nur ausnahmsweise (vergl. § 5) zur Entwickelung kommt. Nitrate werden energisch reduziert zu Nitriten und Ammonsalzen, aber nicht zu Stickstoff. Sie sind bei Gegenwart von Zucker eine gute Stickstoffquelle; doch können auch die Nitrite und Ammonsalze als solche fungieren. Alle diese Stickstoffverbindungen werden in viel höheren Konzentrationen vertragen wie durch Chroococcum, so daß aus einem Gemisch beider Arten in stickstofffreier Nährlösung letztere verschwindet durch Hinzufügung selbst von geringen Quantitäten (z. B. 0,1 Proz.) solcher Stickstoffkörper.

Die beiden als Tenax und Mucosum bezeichneten Varietäten von Polymyxa sind aus unfruchtbarem Haidesand aus der Nachbarschaft von Wageningen isoliert, worin dieselben reichlich vorkommen[1]). Tenax wurde so genannt, weil sie fest mit dem Agar verwächst und nur schwierig mit dem Platinfaden davon entfernt werden kann. Mucosum liegt dagegen als dicker loser Schleim auf der Glukoseagarplatte und hat dann viel Aehnlichkeit mit Chroococcum, nur daß die Kolonieen von dem letzteren kleisterartig trübe, diejenigen von Mucosum mehr durchsichtig sind. Mikroskopisch findet man bei Tenax und Mucosum Stäbchen und schmale Clostridien mit länglichen Sporen (Versuch 47 und 48).

Granulobacter sphaericum. Diese interessante Bakterie wurde in der ersten Mitteilung über Oligonitrophilen schon kurz beschrieben[2]). Seitdem habe ich damit viele Versuche angestellt und zahlreiche neue Isolierungen ausgeführt.

Die kleinen, beinahe sphärischen oder birnförmigen Clostridien mit länglichen Sporen werden nur bei der Isolierung aus solchen Rohkulturen erhalten, welche mit Erde (oder Dünensand etc.) am besten nach vorheriger Erhitzung auf 85° C infiziert sind; bei den Ueberimpfungen werden die Clostridien dünner und länger. Lange an der Luft kultiviert, geht die Wachstumsfähigkeit bei manchen Stämmen ganz verloren. In anderen Fällen ist die Form viel stabiler und nähert sich dann mehr der vorigen Art; auch sind bei dieser weniger variabelen Form die Sporen und Clostridien größer. Am wenigsten verändern sich die Kulturen auf fester Grundlage, wenn symbiotisch kultiviert mit Chroococcum + Radiobacter auf stickstoffarmem Glukoseagar, wobei ein üppiges Wachstum und starke Schleimbildung bei allen drei Species beobachtet wird. Auf Würzegelatine konnte ich niemals Wachstum beobachten. Die Kolonieen auf Glukoseagar haben Neigung, seitlich auszuwachsen und sich zu verzweigen und erinnern stark an B. subtilis.

---

1) Viele Muster von Haidesand aus jener Gegend von verschiedener Tiefe herstammend erhielt ich von meinem Freunde Dr. O. Pitsch. In keinem einzigen davon konnte A. chroococcum nachgewiesen werden. Mit den daraus stammenden Granulobacter-Formen konnte ich nur dann Stickstoffbindung beobachten, wenn in der Kulturflüssigkeit zugleich A. chroococcum vorkam, und ich suchte vergebens andere Arten aus dem Sande zu isolieren, welche zusammen mit Granulobacter Stickstoff binden konnten.

2) Centralbl. f. Bakt. l. c. p. 564.

Die Veränderlichkeit von Gr. sphaerium steht in nahem Zusammenhang mit der Mikroaërophilie, welche hier ziemlich stark ausgeprägt ist. Gänzlich anaërob ist die Form durchaus nicht, wie schon aus der sehr einfachen Isolierung an der Luft erhellt, doch verlieren die Kulturen, bei vollem Luftzutritt gehalten, ihre Eigenschaften, besonders bald das Gärungsvermögen und die Neigung zur Clostridienbildung. Auch die Intensität, womit in Gemeinschaft mit Chroococcum der freie Stickstoff gebunden wird, wird unter dem Einfluß lange einwirkender Lüftung geringer, doch geht das Vermögen nicht verloren, und wenn nur Zeit da ist, sind die Ausbeuten nur wenig geringer, wie mit frischen Kulturen.

Frisch isolierte Stämme, mit Chroococcum in der stickstofffreien Glukosenährlösung kultiviert, produzieren neben einem Gemisch von Propyl- und etwas Butylalkohol ein höchst angenehmes Aroma von spezifischer Natur. Wasserstoff und Kohlensäure entstehen dabei in geringer Quantität. Das mikroskopische Bild solcher Kulturen ist überraschend wegen des profusen Wachstums der beiden Arten, wovon unter nicht näher bekannten Bedingungen Chroococcum zum Stillstand kommen und selbst so gut wie vollkommen durch Gr. sphaericum verdrängt werden kann. Dennoch können auch solche Kulturen eine hohe Stickstoffausbeute ergeben, woraus ich ableite, daß Gr. sphaericum an und für sich und ohne Chroococcum imstande sein muß, den freien Stickstoff zu binden und die dabei entstehende Verbindung auch selbst fürs Wachstum zu verwenden. Warum dabei die Gegenwart von Chroococcum eine so günstige Bedingung ist, ist noch nicht aufgeklärt. Gewiß handelt es sich hierbei noch um eine andere Beeinflussung wie Sauerstoffentziehung allein. Denn wäre dieses nicht der Fall, so würden auch wohl andere Bakterien imstande sein, die Rolle von Chroococcum zu übernehmen. Durch viele Versuche haben wir uns jedoch überzeugt, daß dieses nicht gelingt. So wurden die folgenden Kombinationskulturen, sowohl in Mannit- wie Glukoselösungen untersucht, und zwar alle mit negativem Resultat; Sphaericum + Mesent. vulgatus, Sphaericum + Subtilis, Sphaericum + Aërogenes 1, Sphaericum + Fluorescens non liquefaciens, Sphaericum + Aërogenes 2, Sphaericum + Radicicola (aus Weißklee), Sphaericum + Radiobacter. In keinem einzigen Falle war Wachstum von irgend welcher Bedeutung bemerkbar, trotzdem die Kulturen monatelang aufbewahrt wurden. Auch wurde vielfach versucht, durch beschränkten Luftzutritt solche Kombinationskulturen oder auch die Reinkulturen von Sphaericum allein besser wachsen zu lassen, jedoch immer vergebens. Nur der Zusatz von Chroococcum konnte Wachstum und Stickstoffbindung anregen.

Sphaericum ist eine sehr allgemein verbreitete Bakterie, welche auch im Leitungswasser vorkommt, so daß, wenn unsere gewöhnlichen Mannit- oder Glukoselösungen nur einfach gekocht und nicht sterilisiert waren, darin gebrachte Aussaaten von Chroococcum oft kräftig wuchsen, sich dann jedoch immer als infiziert mit dieser oder einer anderen Granulobacter-Art ergaben.

Granulobacter reptans. Diese ist eine Zwischenform zwischen letzterer Art und Gr. polymyxa und ist auf ähnliche Weise wie Gr. sphaericum in Reinkultur zu erhalten, nämlich aus unserer gewöhnlichen stickstofffreien Nährlösung, nachdem diese infiziert ist mit pasteurisierter Gartenerde + Chroococcum. Sobald kräftiges Wachstum begonnen hat, werden Impfstriche auf Glukoseagar gezogen, wobei, wie im vorigen Falle, stark verzweigte dünn aufliegende, weit umherkriechende Kolonieen entstehen. Es ist aber auch möglich, aus den Kulturen von pasteurisierter Erde + Chroococcum auf Platten von Würzegelatine, worauf Sphaericum nicht wächst, die eigentümlichen Kolonieen von Reptans zu erhalten, welche eben auf diesem Boden leicht kenntlich sind. Dieselben bilden darauf dünne plattenartige, lange fortwachsende Massen von ziemlich fester Konsistenz, welche aus Stäbchen und länglichen, sporenführenden Clostridien bestehen. Sie färben sich mit Jod dunkelblau oder tiefviolett. In Würzelösung verursacht Reptans eine starke Gärung, ganz ähnlich wie Polymyxa. Die Stäbchen dieser Gärung ordnen sich unter dem Deckglas in den Atmungsfiguren wie Spirillen, jedoch in viel weiterer Entfernung vom Meniscus, als wie Spirillen es thun würden, wodurch sie ihre stark ausgeprägte Mikroaërophilie kundgeben. Lange in flüssiger Würze fortgeführte Kulturen verflüssigen bei erneuter Aussaat Würzegelatine energisch, während die frischen Isolierungen wochenlang darauf ohne Verflüssigung fortwachsen.

Obschon feststeht, daß in den reich gelüfteten Rohkulturen bei der Symbiose von Chroococcum mit den aërob kultivierbaren Granulobacter-Arten sehr viel Stickstoff gebunden wird, bin ich doch überzeugt, daß diese Arten desto aktiver sind, je stärker ihre Mikroaërophilie ausgeprägt ist, was sich beurteilen läßt durch die Entfernung der „Atmungslinie" im mikroskopischen Präparate vom Meniscus. Jedenfalls hat sich herausgestellt, daß frisch isolierte, stark mikroaërophile Stämme von Sphaericum und Reptans in derselben Zeit mehr Stickstoff festlegen, wie die gleichen Stämme, nachdem sie durch längere aërobe Kultur mehr aërophil geworden sind. Ganz verloren geht ihre spezifische Aktivität jedoch nicht, selbst nicht nach zweijähriger aërober Kultur.

c) Die anaëroben Buttersäure- und Butylfermente der Rohkulturen.

Obschon der Hauptzweck dieser Abhandlung der Nachweis der Stickstoffbindung in den aëroben Kulturen ist, erfordert die Deutlichkeit einige Angaben über die mit den echten anaëroben Arten von Granulobacter erhaltenen Resultate. Die hier in Betracht kommenden Formen sind bei einer früheren Gelegenheit als Gr. butylicum und Gr. saccharobutyricum beschrieben [1]). Allerdings sind die Kulturen, welche diesen Beschreibungen zu Grunde gelegen haben, bei Versuchen mit Mehlmaischen erhalten und liegt

1) Fermentation et ferments butyliques. (Archives Néerlandaises. T. XXIX. 1896. p. 7.)

eine vollständige Identität derselben mit den in unseren Rohkulturen gefundenen Buttersäure- und Butylfermenten nicht vor. So kann z. B. eine Mehlmaische nicht sofort durch eine Rohkultur in unserer Glukosenährlösung, welche aus Chroococcum + Buttersäureferment besteht, in Buttersäuregärung versetzt werden, dafür fehlt die notwendige Accommodation [1]), und dasselbe gilt in Bezug auf das Butylferment. Im übrigen sind aber die bei diesen so verschiedenen Kulturbedingungen auftretenden Formen so durchaus identisch, daß nicht daran gedacht werden kann, auf die Accommodationsverschiedenheit neue Arten oder selbst nur Varietäten zu gründen. Es ist denn auch meine volle Ueberzeugung, daß es die gleichen Sporen sind, welche bei der Infektion mit Gartenerde einerseits von Mehlmaischen, andererseits von unserer Glukosenährlösung für Stickstoffanhäufung, Buttersäuregärung oder, wenn zu Butylicum gehörig, in beiden Nährmedien die Propyl-Butylalkoholgärung hervorrufen, und daß erst unter diesen spezifischen Ernährungsbedingungen die Accommodation entsteht, welche eben genannt wurde und die also bei den in der Gartenerde vorkommenden Sporen noch fehlt.

Wir sind in Bezug auf die Bindung des freien Stickstoffs durch das Buttersäureferment prinzipiell zu demselben Resultate gekommen wie Winogradsky [2]), der dem Agens dieser Gärung den Namen Clostridium Pasteurianum gegeben hat, doch besteht zwischen seinen und unseren Erfahrungen eine Divergenz in Bezug auf die begleitenden Bakterien, welche die Stickstoffbindung in den Buttersäuregärungen ermöglichen. Nach seinen Angaben handelt es sich dabei einfach um Sauerstoffentziehung, welche sehr gut durch die sporenbildenden aëroben Arten, welche in pasteurisierter Erde neben dem Buttersäureferment lebendig bleiben, würde geschehen können. Wir konnten dagegen niemals befriedigende Kulturen erhalten, so lange wir daran festhielten, die von Winogradsky gegebene Vorschrift, die für die Infektion verwendete Erde zu pasteurisieren, zu befolgen. Zwar stellten sich dabei sehr oft thatsächlich Buttersäuregärungen in unseren Nährflüssigkeiten ein, aber diese kamen immer bald zum Stillstand, wie überhaupt alles weitere Wachstum. Dieses Verhalten änderte sich nicht, wenn für die Ueberimpfungen Nährlösungen mit Rohrzucker oder Mannit, mit oder ohne Zusatz von Kreide, anstatt Glukose verwendet wurde, und ebensowenig, wenn noch überdies allerlei andere gewöhnliche, nicht sporenbildende Bakterien, wie Radicicola, Fluorescens liquefaciens, Fluorescens non liquefaciens, bei der Infektion zugesetzt wurden. Nur die gleichzeitige Gegenwart von Chroococcum veränderte das Verhalten völlig, die Buttersäuregärung konnte dann regelmäßig fortschreiten, bis aller Zucker verschwunden war und es

1) Es ist hier nicht die Stelle, auf die schwierige und außerordentlich wichtige Frage der Accommodation bei den Bakterien näher einzugehen. Diese muß für spätere Mitteilungen vorbehalten werden.

2) Assimilation de l'azote libre l. c.

wurden Stickstoffausbeuten erlangt, ganz ähnlich den von Winogradsky gefundenen, das ist von 3 mg gebundenem Stickstoff pro g verschwundenem Zucker, und selbst noch mehr. In vielen solchen Fällen konnte nach einigen Ueberimpfungen bei sorgfältiger kultureller Untersuchung keine einzige andere aërobe Bakterie gefunden werden wie Chroococcum und keine andere anaërobe wie das Buttersäureferment.

Solche in Bezug auf Buttersäurebildung und Stickstoffausbeute produktive Kulturen zeichneten sich immer dadurch aus, daß die auf der Oberfläche der Lösung treibende Chroococcum-Haut sich schließlich tiefbraun bis schwarz färbte, während gleichzeitig die Buttersäure und das anfangs gebildete Calciumbutyrat gänzlich verschwanden, unter Bildung von Calciumkarbonat, welche Oxydation aber durch Chroococcum besorgt wird. In diesem Oxydationsvorgange, wofür wir keine andere geeignete Bakterienart, wie Chroococcum allein gefunden haben, zusammen mit der für die Anaërobiose des Buttersäurefermentes notwendigen Sauerstoffabsorption, sehen wir jedenfalls die Hauptbedeutung, wenn auch nicht die einzige Bedeutung, jener Bakterie für die Stickstoffbindung durch letzteres Ferment.

Bei unseren Infektionsversuchen mit pasteurisierter Gartenerde ist es oft vorgekommen, daß überhaupt keine Buttersäure-, sondern Propyl-Butylalkoholgärung [1]) sich eingestellt hat, sowohl in der Glukose- wie in der Mannitnährlösung. In solchen Fällen konnten die sporenbildenden aëroben Begleitbakterien auch bei Abwesenheit von Chroococcum zu einem beträchtlicheren Stickstoffgewinn Veranlassung geben, wie wenn Buttersäure gebildet wurde. Aber auch in diesem Falle hat die Gegenwart von Chroococcum einen so prononciert günstigen Effekt ausgeübt, daß wir keine Veranlassung hatten, uns in die Verhältnisse bei Abwesenheit dieser Art zu vertiefen. Endlich haben manche Rohinfizierungen mit Gartenerde, welche nicht einmal pasteurisiert war, Kulturen erzeugt, worin zwar die äußeren Anzeichen der Buttersäure- und Propyl-Butylgärung fehlten, mikroskopisch aber Bacillen und Clostridien in geringer Anzahl gefunden wurden, welche als die Agentien jener Gärungen aufzufassen waren und eben in diesen Versuchen, wobei zu gleicher Zeit ein außerordentlich lebhaftes Wachstum von Chroococcum und Radiobacter bemerkt wurde, sind sehr hohe Stickstoffausbeuten erzielt (Vers. 15 und 17).

Hat sich bei dieser Versuchsanstellung eine kräftige Buttersäuregärung entwickelt, so giebt ein Kulturtropfen für die Beobachtung der Atmungslinie in die Glaskammer [2]) gebracht, ein

1) Ich war früher der Meinung, daß diese Gärung der Hauptsache nach Butylalkohol erzeugt und gab (l. c.) dem Agens unter diesem Eindruck den Namen Gr. butylicum. Doch hat sich später herausgestellt, daß der Alkohol der Hauptmasse nach Propylalkohol ist.

2) Meine Glaskammer unterscheidet sich von den schon beschriebenen dadurch, daß das Präparat sich an der Unterseite des Objektglases befindet, welches deshalb so dünn sein muss, wie das Deckglas; das Deckglas selbst wird durch Kapillarität vor dem Abfallen bewahrt. Die Einrichtung ist, wie folgt: Ein

sehr überzeugendes Resultat, einerseits durch die Entstehung einer ausgezeichnet scharfen Anhäufungslinie der sehr beweglichen mikroaërophilen Stäbchen in beträchtlicher Entfernung vom Meniscus, andererseits durch das intensive Wachstum von Chroococcum im Meniscus selbst, auf Kosten der durch das Buttersäureferment erzeugten Stickstoffverbindung. Wenn eine Kultur des anaëroben Butylfermentes vorliegt, gelingt dieser Versuch durchaus nicht mit gleicher Eleganz.

Da die bei unseren Versuchen auftretenden Buttersäure- und Butylfermente beträchtliche Verschiedenheiten gezeigt haben, erscheint es möglich, daß die hier vorkommenden Varietäten sich anders verhalten, wie diejenigen von anderen Orten.

Ehe wir diese Betrachtung abschließen, wünschen wir noch hervorzuheben, daß wir in denjenigen Rohkulturen, wo frische Gartenerde für die Infektion verwendet war, so daß alle in unseren Nährlösungen entwickelungsfähigen Bakterien sich hatten vermehren können, die folgende Erscheinung beobachtet haben: Es kommt bei der aëroben Kultur oft vor, daß die sich ruhig überlassenen, nicht geschüttelten Rohkulturen, wenn fortwährend unter 28° C gehalten, schließlich gänzlich „gelatinieren", infolge der profusen Schleimbildung durch Chroococcum[1]). Dieser Schleim hat zwei bemerkenswerte Eigenschaften: Fehling'sche Lösung wird dadurch zuerst gelb, später, durch Ausscheidung von metallischem Quecksilber schwarz gefärbt, was auf reduzierende Eigenschaften hinweist. Zweitens ist derselbe fähig, in Buttersäuregärung versetzt zu werden, wobei die gelatinierte Masse unter Gasbildung gänzlich verflüssigt wird. Weil Cellulose von dem Buttersäurefermente nicht angegriffen wird, dagegen wohl die Pektinkörper der Zellwand, dürfte geschlossen werden, daß der Chroococcum-Schleim aus den letzteren besteht. Es kann leicht nachgewiesen werden, daß bei der Verflüssigung der Pektinschicht der gewöhnlichen Zellwand bei höheren Pflanzen durch Buttersäureferment, ein spezifisches durch letzteres Ferment abgesondertes Enzym, die Pektinase, wirksam ist. Das gleiche Enzym dürfte in diesem Falle also verflüssigend auf den Chroococcum-Schleim wirken.

---

kleiner viereckiger Glastrog von 6 cm Länge bei 4 cm Breite und 1 cm Tiefe kann mit einer Platte von Deckglasdicke gänzlich abgeschlossen werden. Der Kultur- oder Mikroskopiertropfen befindet sich auf der Unterseite jener Platte und ist durch ein gewöhnliches großes Deckglas abgedeckt, jedoch in der Weise, daß durch einen zwischengeschobenen Platinfaden zwischen dem hängenden Deckglas und der dünnen Objektplatte ein keilförmiger Raum entsteht (wie ich das im Centralbl. f. Bakt. Bd. IV. 1893. p. 827 abgebildet habe), worin die Mikrobien, sei es durch Bewegung, sei es durch Wachstum, sich an derjenigen Stelle anhäufen, wo der Sauerstoffdruck für die betreffende Art optimal ist. Der Glastrog wird mit etwas Wasser angefüllt, um dem Verdunsten des Mikroskopiertropfens vorzubeugen, und die ganze Kammer wird ihrerseits wieder in eine Glasdose gestellt, worin sich ebenfalls Wasser befindet. Eine solche Kultur kann, ohne zu vertrocknen, wochen- oder monatelang fortgesetzt werden. Die ganze Einrichtung liefert die Instrumentalienhandlung J. W. Giltay, Delft.

1) Dieser Schleim besteht (wie im Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. VII. 1901. p. 567 gezeigt wurde) aus der stark angeschwollenen Zellmembran jener Art. Eine äußerlich ganz ähnliche Schleimbildung kann in unserer Nährlösung auch durch Bac. radicicola und Radiobacter entstehen, doch sind die chemischen Eigenschaften dieses Schleimes davon verschieden.

2. Stickstoffgewinn in den Rohkulturen von Chroococcum.

Für die Stickstoffbestimmung wurde die Methode Kieldahl benutzt, und zwar wegen des Gehaltes an Spuren von Nitraten in der bei mehreren Versuchen zugesetzten Gartenerde die Jodlbauer'sche Abänderung derselben [1].

Zur Erhaltung einer für die Verbrennung mit Schwefelsäure gut geeigneten Masse wurde die Bakterienkultur mit einigen Tropfen basischem Bleiacetat präcipitiert und filtriert, und Präcipitat samt Filter getrocknet und verbrannt, während das Filtrat weggeworfen wurde.

Es hat sich herausgestellt, daß hierbei zwar ein wenig des gebundenen Stickstoffs verloren geht, so daß unsere Zahlen immer etwas unter den wirklich erhaltenen Ausbeuten bleiben, doch ist die Differenz unbeträchtlich, während die Zeitersparung sehr groß ist, weil das schwierige Eindämpfen im Vakuum vermieden wird.

Hier folgt nun zunächst eine als „Blanco" eingeschaltete Angabe über die Korrektion, welche jeweils anzubringen war wegen des Stickstoffgehaltes in den für die Analyse verwendeten Materialen: Phenolschwefelsäure, Zinkstaub, Quecksilber, Natronlauge und Schwefelsäure. Und zweitens eine Korrektion für den Stickstoffgehalt von den Filtern, der Erde und dem Wasser, welche alle mehrfach analysiert wurden. Durch Multiplikation der Kubikcentimeterzehntel Normalschwefelsäure mit 1,4 findet man das entsprechende Gewicht an Stickstoff in Milligrammen. So war in der von uns verwendeten lufttrockenen sterilisierten Erde $4 \times 1{,}4 = 5{,}6$ mg N pro Gramm gegenwärtig, während unser Leitungswasser 0,42 mg N pro Liter, unser Mannit 2,8 mg pro Gramm enthielten, während unser Rohrzucker und Glukose stickstofffrei waren.

	ccm $\frac{N}{10}SO^4H^2$ vor der Destillation	ccm $\frac{N}{10}SO^4H^2$ nach der Destillation	Differenz	Differenz vermindert mit Blanco
Blanco	20,6	19,9	0,7	
Erde, 1 g	20,6	15,9	4,7	4
Erde, 1 g	20,6	15,9	4,7	4
2 Filter, 3 g	20,6	19,2	1,4	0,7
Leitungswasser, 1 l	20,6	19,6	1,0	0,3
Mannit, 2 g	20,6	19,7	0,9	0,2
Rohrzucker, 2 g	20,6	19,9	0,7	0,0
Glukose, 2 g	20,6	19,9	0,7	0,0

1) Nederlandsche Staatscourant. 1899. No. 277. Das getrocknete Filter wird verbrannt mit 15 ccm Phenolschwefelsäure (100 Phenol + 900 SO^4H^2 von 1,8). Nach einiger Zeit werden noch zugesetzt 2 g Zinkstaub, 2 ccm concentrierter SO^4H^2, und ein Tropfen Hg, von ca. 1 g. Vor dem Verbrennen einige Zeit stehen lassen, um Schaumbildung zu vermeiden. Das Verbrennen auf dem Sandbade dauert 4—5 Stunden. — Die Masse wird in einen Literkolben übergespült, es wird 125 Lauge (500 g NaHO + 10 g Na^2S pro Liter) und noch überdies 25 ccm Na^2S (250 g Na^2S pro Liter) zugesetzt mit 2 Stückchen Zink destilliert und das Destillat in $\frac{N}{10}SO^4H^2$ aufgefangen.

Wir geben nun in Tabellenform eine Uebersicht zuerst der mit den Rohkulturen erzielten Stickstoffausbeuten, wobei immer wenigstens 24 Stunden auf 28° C und dann weiter bei 23—25° C kultiviert wurde.

Um nachzuweisen, ob am Ende des Versuches noch Glukose oder Mannit übrig sind, wird, wie folgt, verfahren:

Glukose. Man bringt in einer dünnen Reagentienröhre etwas Methylenblau mit Kalilauge zum Sieden, und läßt aus einer Glasröhre unten in die heiße Flüssigkeit einige Tropfen der zu untersuchenden Lösung fließen: Ist noch Glukose vorhanden, so entfärbt sich das Methylenblau momentan durch Reduktion.

Mannit. Einen Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit läßt man auf dem Objektträger eindampfen. Bei Gegenwart von Mannit entsteht ein charakteristischer weißer Ring von Krystallnadeln am Rande des Tropfens.

Etwa vorhandene Milchsäure wurde nachgewiesen durch die schöne Yttriumreaktion von Prof. J. Behrens, Delft. Dazu wird die Milchsäure mit Aether ausgeschüttelt; es wird in ein Uhrglas der Aether abgedünstet, mit Ammon neutralisiert und ein wenig eines Yttriumsalzes zugesetzt: Milchsäure präcipitiert dabei als höchst charakteristische, stark doppelbrechende Mikrosphaerite von Yttriumlaktat.

Buttersäuregärung war bei diesen Versuchen ausgeschlossen, doch können Anaëroben vorhanden gewesen sein, als vereinzelte Keime in allen Versuchen mit Rohkulturen, bei manchen derselben in reichlicher Anzahl, doch ist deren Unterscheidung von Polymyxa, Reptans und Sphaericum mikroskopisch und kulturell schwierig und nur bei reichlicher Gegenwart derselben durchzuführen. In allen diesen Versuchen ist der gebundene Stickstoff der Hauptsache nach als Bakterieneiweiß in den Chroococcum-Zellen aufgespeichert, denn wenn auch die Zellen von Granulobacter und Radiobacter prozentual viel reicher an Eiweiß sind, wie diejenigen von Chroococcum, so ist doch deren Anzahl zu gering, um im Endresultat den Durchschlag zu geben.

(Siehe Tabelle Seite 22 und 23.)

In Bezug auf die Versuchseinrichtung sei noch folgendes bemerkt:

Für den Anfangsversuch diente als Infektionsmaterial frische Gartenerde. Die dabei erhaltenen Rohkulturen waren strotzend mit Chroococcum gefüllt und dienten für die Ueberimpfung. Diese letztere wurde dann wiederholt und so eine ganze Serie von Kulturen erhalten, wobei natürlich jede Kultur für viele Parallelserien Ausgang werden konnte. Die getrocknete Erde, welche später durch sterilisierte ersetzt wurde, diente überall als Stickstoffnahrung, wodurch die Entwickelung der Kulturen beschleunigt wird. Wie man sieht, wurden dadurch gewöhnlich ca. 3 mg N in 200 oder 300 ccm Nährlösung eingeführt.

Wir fassen das Resultat der Stickstoffbestimmungen in den Rohkulturen wie folgt zusammen:

Stickstoffgewinn in Rohkulturen.

Kulturflüssigkeit 1: Leitungswasser 100, K^2HPO^4 0,05, Glukose 2 — Kulturflüssigkeit 2: Leitungswasser 100, K^2HPO^4 0,05, Glukose 2

No. des Versuches und Kulturzeit	Anzahl Kulturtage	Kulturflüssigkeit	Infektionsmaterial	cc $\frac{N}{10}$ SO^4H^2 Vor der Destillation	cc $\frac{N}{10}$ SO^4H^2 Nach der Destillation	Differenz und Korrektur	Differenz korrigiert	Stickstoffgewinn in mg gefunden	Stickstoffgewinn in mg pro Liter	Stickstoffgewinn in mg pro Gramm Glukose od. Mannit	Bemerkungen
1. 1. bis 9. Mai	8	No. 1, 300 ccm getrocknete Erde 1 g	Chroococcum roh, frische Gartenerde	20,6	3,7	16,9 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,1 Mannit 0,6 Erde 4 Filter 0,35 5,75	11,15	15,61	51,98	2,60	Propylalkohol gebildet
2. 20. Sept. bis 1. Nov.	41	No. 1, 300 ccm	Chroococcum roh, 2 mal übergeimpft	22,7	14,5	8,2 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,1 Mannit 0,6 Filter 0,35 1,75	6,45	9,03	30,07	1,55	
3. 30. Sept. bis 1. Nov.	41	No. 1, 300 ccm Kreide 6 g (stickstofffrei)	Chroococcum roh, 3 mal übergeimpft	22,7	16,0	6,7 Korr. wie No. 2 1,75	4,95	6,93	23,08	1,15	
4. 9. bis 14. Nov.	5	No. 1, 300 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 6 mal übergeimpft	20,6	11,7	8,9 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,1 Mannit 0,6 Erde 2,— Filter 0,35 3,75	5,15	7,21	24,01	1,21	Kein Gas gebildet
5. 9. bis 14. Nov.	5	No. 1, 300 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 6 mal übergeimpft	20,6	13,2	7,4 Korr. wie No. 4 3,75	3,65	5,11	17,01	0,85	Wenig Gas gebildet
6. 9. bis 16. Nov.	7	No. 1, 300 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 6 mal übergeimpft	20,6	11,3	9,3 Korr. wie No. 4 3,75	5,55	7,77	25,87	1,29	Viel Gas gebildet
7. 23. Nov. bis 1. Dez.	8	No. 1, 300 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 17 mal übergeimpft	30,9	11,4	19,5 Korr. wie No. 4 3,75	15,75	22,05	73,42	3,67	Viel Gas gebildet, kein Butylalkohol
8. 23. Nov. bis 1. Dez.	8	No. 2, 300 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 17 mal übergeimpft	30,9	9,8	21,1 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,1 Glukose 0,3 Erde 2 Filter 0,35 3,45	17,65	24,71	82,28	4,12	Viel Gas gebildet, kein Butylalkohol
9. 23. Nov. bis 5. Dez.	12	No. 1, 300 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 17 mal übergeimpft	30,9	17,4	13,5 Korr. wie No. 4 3,75	9,75	13,65	45,45	2,27	Viel Gas gebildet, kein Butylalkohol

Stickstoffgewinn in Rohkulturen.

No. des Versuches und Kulturzeit	Anzahl Kulturtage	Kulturflüssigkeit	Infektionsmaterial	cc $\frac{N}{10}SO^4H^2$ Vor der Destillation	cc $\frac{N}{10}SO^4H^2$ Nach der Destillation	Differenz und Korrektur	Differenz korrigiert	Stickstoffgewinn in mg gefunden	Stickstoffgewinn in mg pro Liter	Stickstoffgewinn in mg pro Gramm Glukose od. Mannit	Bemerkungen
10. 28. Nov. bis 4. Dez.	6	No.2, 150 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 20mal übergeimpft	30,9	12,8	18,1 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,04 Glukose 0,15 Erde 2 Filter 3,24	14,86	20,80	138,52	6,93	Viel Gas gebildet, kein Butylalkohol Glukose verschwunden
11. 28. Nov. bis 4. Dez.	6	No.2, 150 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 20mal übergeimpft	30,9	13,1	17,8 Korr. wie No.10 3,24	14,56	20,38	135,73	6,79	Viel Gas, kein Butylalkohol-Spur, Glukose noch vorhanden
12. 28. Nov. bis 10. Dez.	12	No.1, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 21mal übergeimpft	30,9	17,2	13,7 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Mannit 0,4 Erde 2 Filter 0,35 3,51	10,19	14,26	71,30	3,56	Viel Gas gebildet, kein Butylalkohol
13. 30. Nov. bis 6. Dez.	6	No.2, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh	30,9	16,0	14,9 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,2 Erde 2 Filter 0,35 3,31	11,59	16,22	81,10	4,05	Wenig Gas gebildet, kein Butylalkohol
14. 8. bis 30. Dez.	12	No.2, 200 ccm	Chroococcum roh, aus Glukose übergeimpft	20,6	17,2	3,4 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,2 Filter 0,35 1,31	2,09	2,92	14,60	0,73	Milchsäure gebildet durch Aërogenes
15. 7. bis 16. Jan.	9	No.2, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 1mal übergeimpft	30,8	11,4	19,4 Korr. wie No.12 3,51	15,89	22,24	111,20	5,56	Glukose verschwunden
16. 7. bis 30. Jan.	21	No.1, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Frische Gartenerde	20,8	14,1	6,7 Korr. wie No.12 3.51	3,19	4,46	22,30	1,12	Mannit nicht ganz verschwunden
17. 16. bis 30. Jan.	14	No.1, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum roh, 2 mal übergeimpft	20,8	7,8	13,0 Korr. wie No.12 3,51	9,49	13,28	66,43	3,57	Mannit verschwunden
18. 6. Febr. bis 14. März	36	No.2, 200 ccm	Chroococcum roh, 34mal übergeimpft in No. 1	20,8	8,6	12,2 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,6 Glukose 0,2 Filter 0,35 1,31	10,89	15,24	76,20	3,81	Glukose verschwunden
19. 10. bis 20. Mai	10	Leitungswasser 300 Rohzucker 6 $KHPO^4$ 0,15	Chroococcum + pasteurisierte Erde + Radicicola (Rotklee)	30,9	26,4	4,5 Blanco 0,7 Leitungsw. 1 Rohzucker 0 Filter 0,35 1,15	3,35	4,69	15,61	0,78	Propylalkohol gebildet

In keinem Falle haben wir stickstoffassimilierende Rohkulturen, wofür Gartenerde als Infektionsmaterial gedient hatte, bekommen, worin Chroococcum dauernd fehlte. Zwar war der Zeitverlauf, nach welchem die Entwickelung dieser Bakterie bemerkbar wurde, sehr verschieden, doch wurde stets beobachtet, daß, solange diese Entwickelung noch nicht begonnen hatte, auch ein kräftiges Wachstum der Begleitbakterien, wie auch Stickstoffassimilation ausblieben.

Wenn jene Art zufälligerweise im Infektionsmaterial gefehlt hatte, blieb merkliches Wachstum in der von uns vorzugsweise verwendeten Mannitnährlösung aus, doch war die Hinzufügung einer Reinkultur derselben dann zureichend, um das Wachstum der Begleitbakterien und die Stickstoffaufnahme anzuregen.

Die höchsten Stickstoffausbeuten, welche wir überhaupt erzielten, sind in solchen Rohkulturen erhalten, z. B. bei den Versuchen 8, 10 und 11 im November und Dezember 1901. Hierbei diente als Infektionsmaterial die 17. und 20. Ueberimpfung unserer in Mannitlösung fortgeführten Hauptserie. Die verwendeten Nährlösungen waren aber in diesem Falle nicht Mannit-, sondern Glukosenährlösungen. Schon nach 6 Tagen war der Zucker verschwunden und es wurde bei den Versuchen an assimiliertem Stickstoff 6,93 und 6,79 mg pro Gramm Zucker oder 138,6 und 135,8 mg pro Liter Kulturflüssigkeit festgelegt. Diese Beträge sind mehr als doppelt so groß wie die höchsten Zahlen, welche Winogradsky in seinen Buttersäuregärungen gefunden hat, welche 3 mg N pro Gramm Zucker nicht überstiegen. Ueberdies sind unsere Kulturzeiten viel kürzer. Buttersäuregärung war bei diesen Versuchen ebensowenig bemerkbar, wie Propylbutylgärung. Dennoch waren wahrscheinlich viele Bacillen auch von diesen Fermenten gegenwärtig und aktiv bei der Stickstoffbindung beteiligt. Essentiell ist deren Gegenwart jedoch nicht, weil die Kombination Radiobacter + Chroococcum für die Stickstoffbindung ausreicht und bei vielen dieser Versuche auch sicher allein vorlag. Bei diesen, wie überhaupt bei den meisten (nicht allen) produktiven Kulturen findet ziemlich starke Gasbildung statt, welche durch verschiedene Formen von Aërogenes verursacht wird, wovon in den betrachteten Fällen drei Formen nachgewiesen werden konnten, wovon, wie in § 1 beschrieben, zwei Säure und einer Alkali erzeugten. Die Hauptmasse des analysierten Bakterienmaterials bestand, außer aus diesen Aërogenes-Formen, welche in den Versuchen erst die dritte Stelle einnahmen, der Hauptsache nach aus Chroococcum und in zweiter Linie aus Radiobacter.

Die Granulobacter-Arten kommen bei der Analyse kaum in Betracht, obschon darauf hingewiesen sein mag, daß besonders die Stäbchen und Clostridien der Buttersäure- und Butylfermente individuell eiweißreich sind und eine viel dünnere Schleimhaut besitzen, wie die Chroococcum- und Radiobacter-Zellen. Hiermit soll natürlich nicht behauptet sein, daß diesen Formen keine Bedeutung für die Stickstoffbindung in den Rohkulturen zuzuschreiben ist; ganz im Gegenteil, es steht fest, daß selbst eine geringe Zahl von Granulobacter-Individuen in

dieser Beziehung sehr aktiv ist, und zwar durch Erzeugung der Stickstoffverbindung aus dem freien Stickstoff, welcher durch Chroococcum weiter verarbeitet wird. Doch ist das natürlich etwas ganz anderes, wie die Frage nach der Herkunft des schließlich bei der Analyse vorliegenden Bakterieneiweißes. Und es kann, wie gesagt, Granulobacter in den Rohkulturen auch vollständig fehlen.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist trotz der Verwendung eines scheinbar identischen Infektionsmaterials bei sicher identischen Ernährungsbedingungen das Resultat der Versuche sehr fluktuierend, was besonders hervorgeht aus dem Vergleiche der Kulturen 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 17 und 18, welche alle aus unserer Hauptserie in der, in den Versuchen bezeichneten Weise, geimpft waren. Offenbar handelt es sich dabei um schwierig berechenbare Umstände, welche einerseits aus der relativen Anzahl der zufällig ausgesäten Keime der in den verschiedenen Rein- und Rohkulturen vorkommenden Arten, andererseits aus dem eigentümlichen Accommodationszustand der letzteren erklärt werden müssen. Aus Versuch 14 bemerkt man, daß sobald Aërogenes sich beträchtlich vermehrt, infolge von Milchsäurebildung die Stickstoffassimilation sich stark vermindert.

Im Versuch 19 sieht man, daß die Zufügung von Radicicola aus Rotklee an und für sich nicht imstande war, einen günstigen Effekt zu sichern.

Uebrigens glaube ich, daß die Beschreibung der Versuche in der Tabelle übersichtlich genug ist, um eine längere Betrachtung davon hier unnötig zu machen.

3. Stickstoffgewinn in partiellen Rohkulturen.

Wir wünschen nun die Stickstoffausbeuten zu betrachten, welche wir in den als „partielle Rohkulturen“ bezeichneten Versuchen erzielten.

Diese beziehen sich auf Kulturen, wo nicht das vollständige Bakteriengemisch aus frischer Erde zur Aussaat verwendet wird, sondern nur die darin vorkommenden sporogenen Formen, so wie sie bei der Erhitzung während 5 Minuten auf 85 ° C lebend bleiben, wozu dann bestimmte, nicht sporenbildende Arten noch überdies zugesetzt werden können.

(Siehe Tabelle Seite 26 und 27.)

Wie man aus der Tabelle sieht, haben unsere Kulturen, in Uebereinstimmung mit Winogradsky's Angabe, zwar überzeugend gezeigt, daß die Gegenwart von nicht sporenbildenden Arten für die Stickstoffbindung nicht unbedingt notwendig ist (Vers. 20, 22, 23). Fügten wir der pasteurisierten Erde jedoch Radiobacter zu, so hat sich das Resultat in gewissen Fällen in quantitativer Beziehung etwas gebessert (Vers. 28), in anderen Fällen nicht (Vers. 29). Wenn aber Chroococcum zugleich mit pasteurisierter Erde zur Aussaat kam, sind die Resultate entschieden günstiger ge-

Stickstoffgewinn in partiellen Rohkulturen.

Kulturflüssigkeit No. 1: Leitungswasser 100, Mannit 2, K^2HPO^4 0,05 — Kulturflüssigkeit No. 2: Leitungswasser 100, Glukose 2, K^2HPO^4 0,05

No. des Versuches und Kulturzeit	Anzahl Kulturtage	Kulturflüssigkeit	Infektionsmaterial	cc $\frac{N}{10}SO^4H^2$ Vor der Destillation	cc $\frac{N}{10}SO^4H^2$ Nach der Destillation	Differenz und Korrektur	Differenz korrigiert	Stickstoffgewinn in mg gefunden	Stickstoffgewinn in mg pro Liter	Stickstoffgewinn in mg pro Gramm Glukose od. Mannit	Bemerkungen
20. 7. Dez. bis 16. Jan.	20	No. 1, 200 ccm Kreide 4 g	Pasteurisierte Gartenerde	20,8	18,4	2,4 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,2 Filter 0,35 Kreide 0 1,31	2,09	1,24	6,20	0,31	Buttersäure gebild. Noch Mannit übr.
21. 8. bis 22. April	14	No. 2, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g, Kreide 2 g	Chroococc. + pasteurisierte Erde v. Grasboden	20,6	3,2	17,4 Blanco 0,9 Glukose 0,2 Leitungsw. 0,06 Erde 2 Filter 0,35 3,31	14,09	19,72	98,60	4,93	Glukose verschwunden, kein. Buttersäure, Propyl-Butylalkohol
22. 8. bis 23. April	15	No. 2, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g, Kreide 2 g	Pasteurisierte Erde v. Grasboden	20,6	15,8	3,8 Korr. wie No. 63 3,31	0,49	0,68	3,40	0,17	Glukose verschwunden, Buttersäure
23. 14. bis 23. April	9	No. 9, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g, Kreide 2 g	Pasteurisiertes Material aus No. 21	20,6	12,7	7,9 Korr. wie No. 63 3,31	4,59	6,42	32,10	1,60	Glukose verschwunden, Buttersäure
24. 20. Sept. bis 1. Nov.	41	No. 1 300 ccm	Chroococc. + Buttersäuregärung aus 20	22,7	16,2	6,5 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,1 Mannit 0,6 Filter 0,35 1,75	4,75	6,65	22,14	1,11	
25. 20. Sept. bis 1. Nov.	41	No. 1, 300 ccm Kreide 6 g	Chroococc. + Buttersäuregärung aus 22	22,7	16,1	6,6 Korr. wie No. 2 1,75	4,85	6,79	22,61	1,13	Mannit nicht ganz verschwunden
26. 20. Dez. bis 10. Jan.	21	No. 2, 200 ccm	Chroococc. + spontaner Infekt. gekochter Nährlös.	20,8	9,5	11,3 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,2 Filter 0,35 1,31	9,99	13,98	69,90	3,49	Mannit verschwunden, kein. Buttersäure
27. 27. Dez. bis 16. Jan.	20	No. 1, 200 ccm	Chroococc. + Buttersäuregärung 25	20,8	17,9	2,9 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Mannit 0,4 Filter 0,35 1,51	1,39	1,94	9,70	0,48	Mannit nicht ganz verschwunden, Spuren von Buttersäure

Stickstoffgewinn in partiellen Rohkulturen.

No. des Versuches und Kulturzeit	Anzahl Kulturtage	Kulturflüssigkeit	Infektionsmaterial	cc $\frac{N}{10}$ SO^4H^2 Vor der Destillation	cc $\frac{N}{10}$ SO^4H^2 Nach der Destillation	Differenz und Korrektur	Differenz korrigiert	Stickstoffgewinn in mg gefunden	Stickstoffgewinn in mg pro Liter	Stickstoffgewinn in mg pro Gramm Glukose od. Mannit	Bemerkungen
28. 17. Jan. bis 7. Febr.	21	No. 2, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g, Kreide 0,5 g	Radiobacter + pasteurisierte Erde	20,8	12,2	8,6 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,2 Erde 2 Filter 0,35 3,31	5,29	7,40	37,03	1,85	Glukose verschwunden
29. 17. Jan. bis 7. Febr.	21	No. 1, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Radiobacter + pasteurisierte Erde	20,8	15,8	5,0 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Mannit 0,4 Erde 2 Filter 0,35 3,51	1,49	2,08	10,40	0,52	Mannit nicht ganz verschwunden
30. 27. Jan. bis 14. März	46	No. 1, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococc. + Radiobacter + pasteuris. Erde	20,8	6,9	13,9 Korr. wie No. 29	10,39	14,54	72,70	3,63	Mannit nicht ganz verschwunden, Buttersäure gebildet

worden (Vers. 21, 25, 26, 30) und vergleichbar mit den besseren Rohkulturen, wenn wir auch niemals die besten Resultate, welche mit den letzteren erzielt sind, in dieser Versuchsreihe realisieren konnten.

Glukose bei Gegenwart von Kreide und bei Infektion mit pasteurisierter Erde geht sehr leicht in Buttersäuregärung über, was in unserer Nährlösung 2 mit Stickstoffbindung vereinigt ist. Warum die dabei von uns erzielten Zahlen (Vers. 20, 22, 23) so niedrig geblieben sind, ist nicht recht deutlich. Veränderung in der Lüftung oder Verwendung von Rohrzucker, Lävulose oder Mannit brachte darin keine Veränderung. Die Stickstoffausbeute erhöhte sich zwar auch bei eingetretener Buttersäuregärung, wenn Radiobacter zugesetzt wurde, ohne jedoch zu dem von uns erwarteten Maximum anzusteigen.

Die große Bedeutung von Chroococcum auch für diese Serie ergiebt sich z. B. aus dem Vergleich der Versuche 21 und 22, wovon der erstere, wo jene Art mit pasteurisierter Erde zusammen geimpft war, 4,93 mg gebundenen Stickstoff pro Gramm Zucker geliefert hat, während die daraus durch Pasteurisieren erhaltenen Sporen, also ohne Chroococcum, nur 1,6 mg. produzierten. Versuch 22 zeigt überdies, daß hier nicht an verminderte Accommodation der Fermente gedacht werden kann, denn die pasteurisierte Erde, für sich gebraucht, ohne Passage einer Symbiose mit Chroo-

coccum, lieferte nur 0,17 mg in ebensoviel Kulturtagen wie bei Versuch 21. Die günstigen Resultate, welche bei diesen partiellen Rohkulturen mit Glukose zu erzielen sind, im Gegensatz zu den vollständigen Rohkulturen der vorhergehenden Serie, müssen daraus erklärt werden, daß viele Bakterien aus nicht pasteurisierter Erde aus Glukose Säure erzeugen, was namentlich gilt von allen Fluorescenten, sowohl den verflüssigenden wie den nichtverflüssigenden, während in den partiellen Rohkulturen die für die Stickstoffbindung so schädliche Säurebildung hauptsächlich nur seitens des Buttersäurefermentes zu fürchten ist, während die übrigen sporenbildenden Arten nur schwache Säurebildner sind. Daß selbst sehr fein verteilte Kreide ziemlich schwierig in den Nährlösungen die Säuren neutralisiert, ist bekannt, und die günstige Wirkung von Chroococcum muß zweifellos zum Teil aus dessen stark oxydierender Wirkung auf die organischen Säuren und anderenteils aus dessen unter allen Umständen stattfindender Alkalibildung erklärt werden.

Bei zahlreichen Versuchen mit allerlei anderen Bakterienarten ist es uns nicht gelungen, ebensowenig in den Mannit- wie in den Glukosenährlösungen, die günstige Wirkung von Chroococcum (und Radiobacter) zu ersetzen. Wir wählten dazu Aërogenes, Coli, die Fluorescenten, Prodigiosus und Radicicola, entweder jede für sich oder auf allerlei Weise miteinander und der pasteurisierten Erde kombiniert, alles aber vergebens. Dennoch glauben wir, auf Grund der Verwandtschaft mit Radiobacter, daß besonders Radicicola dazu wohl imstande sein könnte, wenn nicht durch die Laboratoriumskultur in einen abnormen Zustand gekommen.

Zu den bemerkenswerten Versuchen von dieser Serie gehört 26, wo die einzigen Begleitbakterien von Chroococcum nur solche Arten waren, welche in dem Leitungswasser lebendig geblieben waren, nachdem dasselbe gekocht war. Solche Kulturen sind uns mehrfach vorgekommen. Mikroskopisch findet man darin, neben sehr viel Chroococcum, nur Stäbchen, welche leicht in aërobe Kultur gebracht werden können auf Glukoseagarplatten bei 28° C. Die dabei erhaltenen Kolonieen gehören meistenteils zu Granulobacter polymyxa, auch bemerkt man darunter den gewöhnlichen Kartoffelpilz, Mesentericus vulgatus, sowie Uebergänge zwischen diesen beiden Arten. Auch ließen sich in einem Falle Sphaericum-Kolonieen darunter nachweisen. Die damit erhaltene Stickstoffausbeute von 3,49 mg ist eine gute zu nennen. Schon nach der ersten Ueberimpfung solcher Rohkulturen in der gleichen Nährlösung verminderte sich die Stickstoffausbeute und wurde bei der wiederholten Ueberimpfung gleich denjenigen, welche in den Kombinationskulturen von Chroococcum + Polymyxa oder Ch. + Sphaericum (Vers. 51 und 52) zu erreichen sind. Die Erklärung dieses allmählichen Verlustes des Vermögens der Stickstoffassimilation geht, hier, wie immer, parallel mit dem Verluste der Mikroaërophilie bei diesen Arten, womit jene Funktion sozusagen umgekehrt proportional ist.

Im übrigen sei für weitere Details wieder auf die Beschreibung der Versuche in der Tabelle verwiesen.

4. Stickstoffgewinn bei Wechselkultur.

Eine besondere Rubrik unserer partiellen Rohkulturen mag den Namen von „Wechselkulturen“ erhalten. Wir verstehen darunter Ueberimpfungen in Nährlösungen, worin infolge der darin gebotenen Nahrung eine andere Mikrobenkombination entsteht, wie anfangs hineingebracht war, und Zurückimpfung aus diesem Medium in das ursprüngliche. In unserem speziellen Falle war es uns darum zu thun, aus den Rohkulturen vielleicht unbekannte Anaëroben zu entfernen. Zwar hatten wir diesen Zweck schon dadurch zu erreichen gesucht, daß wir aus Impfstrichen von Rohkulturen auf Glukoseagarplatten Stücke mit Kolonieengemischen ausgeschnitten hatten, welche unserem Zwecke zu entsprechen schienen, doch waren wir dabei nicht zu einem vollständig überzeugenden Resultate gekommen. Es hatte sich nämlich herausgestellt, daß die direkte Ueberimpfung einer Rohkultur stets ein viel besseres Resultat giebt wie Infektion der Nährlösung mit Stücken aus der Agarplatte, selbst dann, wenn dafür der ganze Strich, also Kolonieen + Zwischenräume, verwendet wurde. Zunächst glaubten wir annehmen zu müssen, daß wir auf diese Weise wirklich eine für die intensive Stickstoffbindung notwendige Anaërobe durch den Kontakt mit der Luft abgetötet hatten. Später kamen wir jedoch zu der Ansicht, daß es sich hierbei nicht um die Beseitigung von Anaëroben, sondern um die Verminderung der Mikroaërophilie bei den stickstoffbindenden Formen überhaupt handeln müßte. Durch das Studium sowohl von Gr. sphaericum wie von Gr. reptans war nämlich, wie schon hervorgehoben, sicher gestellt, daß wenigstens bei diesen Arten die stickstoffbindende Aktivität vermindert bei aërober Kultur, und wir erwarteten das Gleiche für die nicht sporenbildenden Symbionten, das heißt besonders für Radiobacter und Aërogenes.

Wir suchten darum die erwünschte Beseitigung aller Granulobacter-Formen, sowohl der anaëroben wie der aëroben, ohne den Gebrauch eines festen Nährbodens zu erreichen, und zwar durch Ueberimpfung einer Mannit-Rohkultur in eine Lösung, worin zwar energisches Wachstum von Chroococcum stattfinden kann, so daß der Sauerstoff größtenteils verschwindet, jedoch kein Zucker vorkommt, was eben das Wachstum von Granulobacter ausschließt. Organische Salze sind für die Erreichung dieses Zweckes die geeignetste Kohlenstoffquelle. Zwar findet darin überhaupt keine Stickstoffbindung statt, doch lehrt die Erfahrung, daß diese Funktion zeitweise außer Arbeit gestellt werden kann, ohne dann in die Ueberimpfungen für immer verschwunden zu sein. Wir verwendeten z. B. die folgende Nährlösung:

Leitungswasser	100
Natriumacetat	0,5
K^2HPO^4	0,05
Frische Erde	2

Die Erde dient als Stickstoffquelle, welche in diesem Falle notwendig ist, weil, wie gesagt, in Natriumacetatlösung keine Stickstoffassimilation stattfindet. Es wird bei 25° kultiviert und die sich entwickelnde, vorwiegend aus Chroococcum bestehende Bakterienhaut wird übergeimpft in eine ähnliche, jedoch vorher sterilisierte Nährlösung. Die Ueberimpfung wird wiederholt, und wenn die entsprechende Verdrängung der im Acetat nicht lebens- oder konkurrenzfähigen Granulobakterien stattgefunden hat, findet Zurückimpfung in die Zuckerlösung statt.

Hier folgt die Uebersicht eines solchen Versuches:

Versuchszeit	Kulturflüssigkeit	ccm $\frac{N}{10}$ SO^4H^2		Differenz und Korrektur	Differenz korrigiert	Stickstoffgewinn in Milligramm		
		vor der Distill.	nach de Distill.			total gefunden	pro Liter	pro Gramm Mannit
11. Febr. bis 14. März = 31 Kulturtage	Leitungsw. 200 Mannit 4 K^2HPO^4 0,1 Erde (steril) 0,5	20,8	5,4	15,4 Blanco 0,7 Filter 0,35 Mannit 0,4 Erde 2 3,5	11,9	16,6	83,0	4,16

Das Mannit war gänzlich verschwunden, ohne daß Gärungserscheinungen bemerkbar gewesen waren, und bei der mikroskopischen und bakteriologischen Prüfung wurden nur sporenfreie Formen gefunden, welche sich als Aërogenes in Minderzahl und mehrere Varietäten von Radiobacter herausstellten, Granulobacter war sicher nicht gegenwärtig. Trotzdem ist der Gehalt an gebundenem Stickstoff beträchtlich. Wir glauben deshalb berechtigt zu sein, zu schließen, daß das Verfahren ein Mittel giebt, nicht nur gewisse Bakteriengruppen mit bestimmten physiologischen Eigenschaften zu beseitigen, sondern auch, um die stickstoffassimilierenden Arten, wenigstens während der für die Reinigung notwendigen Reihe von Ueberimpfungen gänzlich unverändert zu erhalten.

5. Stickstoffgewinn in Reinkulturen und Kombinationskulturen bekannter aërober Bakterienarten.

In dieser Reihe sollen die Versuche vereinigt werden, welche sich auf Kombinationen von reinkultivierten Arten und auf diese letzteren allein beziehen.

Zunächst wurde festgestellt, daß Chroococcum an und für sich in unseren Nährlösungen keinen (wie in den Vers. 31a und 31b) oder (wie in 31c) doch nur so wenig Stickstoff zu binden vermag, daß darauf keine bestimmte Meinung gegründet werden kann. Als sich dann weiter herausstellte, daß eben diese nämlichen Kulturen durch Zutritt von Sporen von Granulobacter, sei es aus der Luft oder durch unvollständige Sterilisation der Kulturflüssigkeiten, zu einer kräftigen Stickstoffbindung veranlassen, und daß relativ wenige,

schwierig nachweisbare Granulobacter-Stäbchen in dieser Beziehung einen sehr bedeutenden Effekt haben können, glaubten wir lange, annehmen zu müssen, daß in denjenigen Kombinationskulturen von Chroococcum mit anderen nicht sporenerzeugenden Arten, welche sich als Stickstoff sammelnd herausstellten, wohl ebenfalls an unbemerkt hineingelangte Granulobacter-Keime gedacht werden sollte.

Mit der Häufung unserer Erfahrung fanden wir aber, daß dieser Standpunkt ein zu enger war, und daß es sicher aërobe sporenfreie, von Granulobacter gänzlich verschiedene Bakterien giebt, welche zusammen mit Chroococcum den freien Stickstoff binden können. Diese Arten, wovon wir Radiobacter und Aërogenes in § 1 näher kennen lernten und auch bei der Besprechung unserer Wechselkulturen schon angeführt haben, sind in ihren Ernährungsbedingungen weniger spezialisiert wie Granulobacter, und können sich z. B., im Gegensatz zu dieser Gattung, sehr gut mit Salzen organischer Säuren, besonders Malaten, Citraten und Succinaten ernähren, doch findet nur dann Stickstoffbindung durch dieselben statt, wenn irgend eine Zuckerart als Kohlenstoffquelle geboten wird. Letzterer Umstand dürfte darauf beruhen, daß auch bei diesen Arten nur bei Gegenwart von Zucker Mikroaërophilie möglich ist, welche immer als Grundlage für die Assimilation des freien Stickstoffs notwendig zu sein scheint.

Von den hier zunächst in Betracht kommenden Reinkulturen, wovon die auf Chroococcum sich beziehenden (31a, 31b, 31c) schon genügend besprochen sind, sind nur einzelne (Vers. 32 bis 35) in die Tabelle aufgenommen, weil von den zahlreichen in dieser Beziehung ausgeführten Versuchen die meisten schon auf den ersten Anblick die Ueberzeugung gaben, daß darin keine Stickstoffbindung hatte stattfinden können, weil kein Wachstum bemerkbar war; dieselben wurden deshalb nicht analysiert. Es kann aber auch vorkommen, daß eine so starke Schleimbildung ohne merkliche Stickstoffbindung vorkommt, daß man sich in Bezug auf letzteren Vorgang täuscht, und eine Analyse notwendig erscheint, während umgekehrt in Kombinationskulturen mit scheinbar schwachem Wachstum dennoch unter Umständen Stickstoffaufnahme stattfinden kann. Darum bestand Veranlassung, auch die Reinkulturen von Aërogenes, Coli, Mucosum, Radiobacter, Reptans, Sphaericum und Tenax zu untersuchen, jedoch mit negativem Erfolg, warum die betreffenden Versuche nicht aufgenommen sind. Für Polymyxa konnte erwiesen werden, daß diese Art, unter noch nicht gut festgestellten Bedingungen ganz allein ohne gebundenen Stickstoff wachsen kann. Der Versuch, woraus dieses hervorging, war mit einer Glukosenährlösung angestellt, ist aber zufällig verloren gegangen. Die Wiederholung ist nicht gelungen. Uebrigens ist genügend Ursache da, um anzunehmen, daß auch Reptans, Mucosum, Tenax und Sphaericum unter geeigneten Bedingungen ganz allein den atmosphärischen Stickstoff binden können.

Eigentümlicherweise haben wir in einem bestimmten Falle

(Vers. 33) mit dem Kartoffelpilz (B. mesentericus vulgatus) ein positives Resultat in einer Reinkultur erhalten, doch war das spezifische Vermögen schon bei der ersten Ueberimpfung verloren und konnte bei anderen Isolierungen nicht zurückgefunden werden [1]). Nichtsdestoweniger ist es wahrscheinlich, daß eben diese Art für die Stickstoffsammlung in der Natur einige Bedeutung besitzt.

Zu den Kombinationskulturen übergehend, muß zunächst bemerkt werden, daß dieselben bei Abwesenheit von Chroococcum entweder ein durchaus negatives oder ein zweifelhaftes Resultat ergeben haben. Dazu gehören z. B. die Versuche mit Mesentericus vulgatus + Radiobacter (Vers. 34), Sphaericum + Radiobacter, Sphaericum + Radicicola, Reptans + Radiobacter, Reptans + Radicicola, Mesentericus + Radicicola, Mesentericus + Fluorescens und Subtilis in verschiedenen Kombinationen.

Da wir aber Grund haben, für alle Granulobacter-Formen anzunehmen, daß sie unter bestimmten Bedingungen selbst in den Reinkulturen freien Stickstoff assimilieren können, können wir doch diese Versuche mit negativem Resultat noch nicht als beweisend betrachten, schließen daraus vielmehr auf einen ungenügenden Accommodationszustand jener Formen.

Wir kommen nun zur Besprechung derjenigen Kombinationen, worin Chroococcum vorkommt, und finden hier, wie in den Rohkulturen oft sehr beträchtliche Stickstoffanhäufung. Zunächst sind diejenigen Kombinationen, worin Reptans oder Sphaericum vorkommen, bemerkenswert. Hierbei kommen nämlich die folgenden Thatsachen zur Beobachtung: Es kann vorkommen, und dieses gilt eben für die am meisten produktiven Kulturen, wie z. B. für Versuch 50, daß Chroococcum in dem zur Analyse kommenden Material eine ganz untergeordnete Rolle spielt und dieses beinahe gänzlich aus den Stäbchen, Clostridien und Sporen von Sphaericum oder Reptans selbst besteht. Solche Bilder geben die Ueberzeugung, daß diese letzteren Bakterien wohl unter geeigneten Bedingungen auch ganz allein, also ohne Gegenwart von Chroococcum, wachsen und Stickstoff würden binden können, worauf schon oben, bei Besprechung der Reinkulturen, hingedeutet wurde.

Welcher spezifische Umstand dazu aber gefordert wird, ist noch nicht klar. Für das Gelingen eines solchen Versuches müssen die genannten Arten jedoch sicher in einem bestimmten Accommodationszustand vorkommen, der mit dem Maße ihrer Mikroaërophilie zusammenhängt. Uebrigens ist bemerkenswert, daß alle Kombinationskulturen von Chroococcum mit Granulobacter-Formen, und unabhängig von den übrigen Begleitbakterien, zu Assimilation von mehr

1) Die verwendete Form war aus Gartenerde isoliert durch folgenden Versuch: Werden Scheiben von lebenden Kartoffeln mit Gartenerde infiziert, so wächst darauf, bei Luftzutritt und bei Temperatur unterhalb 25° C, gar nichts. Dagegen entwickeln sich auf dem lebenden Gewebe bei 37° C 3 Arten, nämlich: ausnahmslos B. mesentericus und B. subtilis und selten Granulobacter polymyxa. Zu gleicher Zeit ist durch dieses Verhalten ein gutes Mittel zur Diagnose dieser Formengruppe gegeben. Bei Luftabschluß ist auch bei Temperaturen unterhalb 25° C auf lebenden Kartoffeln Wachstum von 2 Anaëroben möglich, welche die sogenannte „Naßfäule“ bewirken.

oder weniger freiem Stickstoff Veranlassung gegeben haben, so daß die hohe Bedeutung eben dieser Kombinationen für den Vorgang überhaupt unzweifelhaft feststeht.

Stickstoffgewinn in Reinkulturen und Kombinationskulturen von bekannten Arten.

Kulturflüssigkeit No. 1: Leitungswasser 100,—; K^2HPO^4 0,05; Mannit 2,—
Kulturflüssigkeit No. 2: Leitungswasser 100,—; K^2HPO^4 0,05; Mannit 2,—

No. des Versuches und Kulturzeit	Anzahl Kulturtage	Kulturflüssigkeit	Infektionsmaterial	ccm $\frac{N}{10}SO^4H^2$ Vor der Destillation	ccm $\frac{N}{10}SO^4H^2$ Nach der Destillation	Differenz und Korrektur	Differenz korrigiert	Stickstoffgewinn in mg: gefunden	Stickstoffgewinn in mg: pro Liter	Stickstoffgewinn in mg: pro Gramm Glukose od. Mannit	Bemerkungen
31a. 17. Jan. bis 7. Febr.	21	No. 1, 100 ccm	Chroococcum	20,8	19,2	1,6 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Mannit 0,4 Filter 0,35 1,51	0,09	0	0	0	Noch viel Mannit übrig
31b. 20. Dez. bis 14. März	84	No. 1, 200 ccm	Chroococcum	20,8	19,4	1,4 Korr. wie No. 27 1,51	0	0	0	0	Noch viel Mannit übrig
31c. 20. Dez. bis 16. Jan.	27	No. 1, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum	20,8	16,9	3,9 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Mannit 0,4 Erde 2 Filter 0,35 3,51	0,39	0,54	2,70	0,13	Mannit nicht ganz verschwunden
31d. 12. bis 18. Dez.	6	No. 2, 200 ccm	Chroococcum	20,6	18,5	2,1 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,2 Filter 0,35 1,31	0,79	1,10	5,50	0,27	Nur Chroococcum
32. 26. Dez. bis 10. Jan.	15	No. 2, 200 ccm aber 1 Proz. Glukose	Mesentericus vulgatus	20,8	19,5	1,3 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,1 Filter 0,35 1,21	0,09	0	0	0	Glukose nicht ganz verschwunden
33. 26. Dez. bis 10. Jan.	15	No. 2, 200 ccm	Mesentericus vulgatus, von lebenden Kartoffeln isoliert	20,8	17,6	3,2 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,2 Filter 0,35 1,31	1,89	2,64	13,20	0,66	Glukose nicht ganz verschwunden
34. 14. Jan. bis 5. Febr.	22	No. 2, 200 ccm	Mesentericus vulgatus + Radiobacter	20,8	19,5	1,3 Korr. wie No. 32 1,31	0	0	0	0	Noch viel Glukose, stark schleimig, etwas Säure gebildet
35. 1. Jan. bis rz	41	No. 2, 200 ccm	Mesentericus vulgatus + Radiobacter	20,8	19,3	1,5 Korr. wie No. 32 1,31	0,19	0,26	1,30	0,06	Noch viel Glukose übrig

Stickstoffgewinn in Kombinationskulturen von bekannten Arten.

suches und Kulturzeit	Anzahl Kulturtage	Kulturflüssigkeit	Infektionsmaterial	cc $\frac{N}{10}SO^4H^2$ Vor der Destillation	Nach der Destillation	Differenz und Korrektur	Differenz korrigiert	Stickstoffgewinn in mg gefunden	pro Liter	pro Gramm Glukose od. Mannit	Bemerkungen
36. Dez. bis Jan.	23	No.1, 200 ccm	Chroococcum + Aërogenes 1	20,8	17,6	3,2 Korr. wie No.27 1,51	1,69	2,36	11,83	0,59	Mannit noch nicht ganz verschwunden
37. Dez. bis . Jan.	22	No.1, 200 ccm	Chroococcum + Aërogenes 2	20,8	17,2	3,6 Korr. wie No.27 1.51	2,09	2,92	14,60	0,73	Mannit nicht ganz verschwunden
38. Dez. bis . Jan.	22	No.1, 200 ccm aber 1 Proz. Mannit	Chroococcum + Aërogenes 2	20,8	18,3	2,5 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Mannit 0,2 Filter 0,35 1,31	1,19	1,66	8,30	0,83	Mannit nicht ganz verschwunden
39. . März bis April	21	No.1, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum + Radiobacter	20,6	12,1	3,5 Blanco 0,7 Mannit 0,4 Leitungsw. 0,06 Erde 2 Filter 0,35 3,51	4,99	6,98	34,90	1,74	Mannit nicht völlig verschwunden
40. . Jan. bis Febr.	12	Leitungswasser 200 K^2HPO_4 0,100 Rohrzucker 4,—	Chroococcum + Radiobacter	20,8	19,6	1,2 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Rohrzuck. 0,0 Filter 0,35 1,11	0,09	0	0	0	Noch viel Rohrzucker übrig
41. Febr. bis . März	36	No.2, 200 ccm	Chroococcum + Radiobacter	20,8	18,3	2,5 Korr. wie No.32 1,31	1,19	1,66	8,30	0,41	Glukose nicht ganz verschwunden. Sehr viel Schleim gebildet
42. Febr. bis . März	36	No.2, 200 ccm Sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococcum + Radiobacter	20,8	6,5	14,3 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,2 Erde 2 Filter 0,35 3,31	10,99	15,38	76,90	3,84	Glukose nicht ganz verschwunden. Nicht schleimig
43. . Febr. bis . März	31	No.1, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococc. + Radiobacter	20,8	5,9	14,9 Korr. wie No.29 3,51	11,39	15,94	79,70	3,98	Mannit nicht ganz verschwunden

Stickstoffgewinn in Kombinationskulturen von bekannten Arten.

No. des Versuches und Kulturzeit	Anzahl Kulturtage	Kulturflüssigkeit	Infektionsmaterial	$cc \frac{N}{10} SO^4H^2$ Vor der Destillation	$cc \frac{N}{10} SO^4H^2$ Nach der Destillation	Differenz und Korrektur	Differenz korrigiert	Stickstoffgewinn in mg gefunden	Stickstoffgewinn in mg pro Liter	Stickstoffgewinn in mg pro Gramm Glukose od. Mannit	Bemerkungen
44. 11. Febr. bis 14. März	31	No. 2, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococc. + Radiobacter	20,8	6,1	14,7 Korr. wie No. 42 3,31	11,39	15,94	79,70	3,98	Glukose nicht ganz verschwunden
45. 17. Dez. bis 16. Jan.	24	No. 2, 200 ccm	Chroococc. + Polymyxa	20,8	18,7	2,1 Korr. wie No. 32 1,31	0,79	1,10	5,50	0,27	Glukose nicht ganz verschwunden
46. 11. Jan. bis 14. März	62	No. 2, 200 ccm	Chroococc. + Mesenteric. vulg.	20,8	18,5	2,3 Korr. wie No. 32 1,31	0,99	1,38	6,90	0,34	Noch viel Glukose, wenig Wachstum
47. 7. bis 18. Dez.	11	No. 1, 300 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococc. + Mucosum	20,6	9,9	10,7 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,1 Mannit 0,6 Erde 2 Filter 0,35 3,75	6,95	9,73	32,41	1,62	Chroococcum und viel Sporen von Granulobacter
48. 7. bis 18. Dez.	11	No. 1, 300 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococc. + Tenax.	20,6	10,4	10,2 Korr. wie No. 47 3,75	6,45	9,03	30,06	1,50	Chroococcum und viel Sporen von Granulobacter
49. 24. April bis 6. Mai	12	No. 2, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococc. + Reptans (frisch isoliert)	20,6	2,4	18,2 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,2 Filter 0,35 Erde 2 3,31	14,89	20,84	104,2	5,91	Chroococcum und viel Sporen von Granulobacter
50. 30. Nov. bis 21. Dez.	21	No. 1, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococc. + Sphaericum (frische Isolierung) Kreide 1 g	20,6	5,4	15,2 Korr. wie No. 29 3,51	11,69	16,36	81,80	4,09	Wenig Chroococcum und viel Sporen von Granulobacter, Mannit verschwunden
51. 18. Dez. bis 16. Jan.	29	No. 1, 200 ccm aber 1 Proz. Mannit	Chroococc. + Sphaericum (alte Isolierung)	20,8	18,5	5,1 Korr. wie No. 38 1,31	0,99	1,38	6,90	0,69	Mannit nicht ganz verschwunden
52. 18. Dez. bis 10. Jan.	23	No. 1, 200 ccm	Chroococc. + Sphaericum (mittelalte Isolierung)	20,8	15,7	5,1 Korr. wie No. 27 1,51	3,59	5,02	25,10	1,25	Mannit nicht ganz verschwunden

Stickstoffgewinn in Kombinationskulturen von bekannten Arten.

suches und Kulturzeit	Anzahl Kulturtage	Kulturflüssigkeit	Infektions-Material	$cc\frac{N}{10}SO^4H^2$ Vor der Destillation	Nach der Destillation	Differenz und Korrektur	Differenz korrigiert	Stickstoffgewinn in mg gefunden	pro Liter	pro Gramm Glukose od. Mannit	Bemerkungen
53. . Dez. bis Jan.	12	No.2, 200 ccm	Chroococc. + Reptans + Radiobacter	20,8	15,8	5,0 Korr. wie No.32 1,31	3,69	5,16	25,80	1,29	Glukose nicht ganz verschwunden
54. . bis . Jan.	8	No.2, 200 ccm sterilisierte Erde 1 g	Chroococc. + Reptans + Radiobacter	20,8	10,2	10,6 Blanco 0,7 Leitungsw. 0,06 Glukose 0,2 Erde 4,— Filter 0,35 5,31	5,29	7,40	37,00	1,85	Glukose nicht ganz verschwunden
55. . Dez. bis . Jan.	30	No.1, 200 ccm	Chroococc. + Aërogenes 2 + Polymyxa	20,8	19,0	1,8 Korr. wie No.27 1,51	0,29	0,40	2,00	0,10	Mannit nicht ganz verschwunden
56. . Dez. bis Febr.	54	No.2, 200 ccm	Chroococc. + Aërogenes + Sphaericum	20,8	15,9	4,9 Korr. wie No.32 1,51	3,59	5,02	25,10	1,25	Noch viel Glukose übrig.
57. . Dez. bis . Jan.	22	No.1, 200 ccm	Chroococc. + Aërogenes 2 + Sphaericum	20,8	17,5	3,3 Korr. wie No.27 1,51	1,79	2,50	12,50	0,62	Mannit nicht ganz verschwunden
58. . Dez. bis . Jan.	22	No.1, 200 ccm	Chroococc. + Aërogenes 2 + Sphaericum	20,8	17,2	3,6 Korr. wie No.27 1,51	2,09	2,92	14,60	0,73	Mannit nicht ganz verschwunden
59. . Jan. bis . Feb.	22	No.2, 200 ccm	Chroococc. + Mesenteric. vulg. + Radiobacter	20,8	18,6	2,2 Korr. wie No.32 1,31	0,89	1,24	6,20	0,31	Glukose nicht ganz verschwunden — stark schleimig
60. . Jan. bis Febr.	21	No.1, 200 ccm sterilisierte Erde 0,5 g	Chroococc. + Aërogenes + Radiobacter	20,8	16,1	4,7 Korr. wie No.29 3,51	1,19	1,66	8,30	0,41	Noch viel Mannit übrig
61. Febr. bis . März	36	No.2, 200 ccm	Chroococc. + Mesenteric. vulg. + Radiobacter	20,8	17,6	3,2 Korr. wie No.32 1,31	1,89	2,64	13,20	0,66	Glukose nicht ganz verschwunden, sehr viel Schleim gebildet.

Wir haben des weiteren die Ueberzeugung gewonnen, daß auch durch die Kombination Chroococcum + Aërogenes (Vers. 36 und 37) eine geringe, aber nicht zweifelhafte Stickstoffassimilation zustande kommen kann.

Für die sehr bemerkenswerten, wenn auch nicht völlig deutlichen Resultate, welche wir mit der Kombination Chroococcum + Radiobacter erhielten, empfehlen wir die Durchsicht unserer Versuche 39—44. Uebrigens zeigt die Studie unserer Tabelle im Ganzen, daß das Assimilationsvermögen in den Kombinationskulturen einen noch viel veränderlicheren Charakter bietet wie in den Rohkulturen, was seine Erklärung findet in dem Zusammenhang jener Funktion mit der Mikroaërophilie, womit sie steigt und fällt, derweise, daß der „anaërobe" Zutand der Begleitbakterien die höchsten Stickstoffausbeuten zu geben imstande wäre. Wir konnten nämlich erweisen, wie schon mehrfach erwähnt, daß bei der aëroben Kultur, besonders bei den Granulobacter-Arten auf den Platten das Sauerstoffbedürfnis zunimmt, das heißt die Mikroaërophilie sich vermindert, womit dann gleichzeitig das Vermögen zur Stickstoffbindung fallen muß. Die Plattenkultur, welche allen diesen Versuchen zu Grunde liegt, ist deshalb verderblich für die Stickstoffassimilation in quantitativer Beziehung, was man am besten sieht aus dem Vergleich des produktiven Versuches 50 mit dem sehr wenig produktiven 51, woraus hervorgeht, wie sehr die Aktivität von Sphaericum sich vermindert durch die Kultur an der Luft. Etwas Aehnliches läßt sich in Bezug auf Reptans konstatieren aus den Versuchen 53 und 54 einerseits und Versuch 49 andererseits.

Wir kommen nun schließlich zur Besprechung derjenigen Gruppen unserer Kombinationskulturen, worin außer Chroococcum noch zwei andere Arten verwendet wurden. Man wird aus dem Vergleich dieser Versuche (53—61) sofort sehen, daß wir dadurch nicht viel Besonderes erreicht haben. Trotzdem sind wir so oft eben auf jene Versuchsanstellung zurückgekommen, erstens, weil wir in dieser Richtung eine Kombination zu finden hofften, wodurch es möglich sein sollte, ebenso viel Stickstoff zu binden, wie in den Rohkulturen, und andererseits, weil wir oft in diesen komplizierten Gemischen eine solche gewaltige Schleimbildung erreichten, daß wir uns auf eine hohe Eiweißausbeute fassen zu müssen glaubten, bis uns dann die Analysen lehrten, daß wir uns jedesmal getäuscht hatten. Wenn auch bei manchen dieser Versuche die Kulturzeiten zu kurz gewesen sein dürften, um die Maximumstickstoffausbeute zu erhalten, können wir doch den geringen Stickstoffgewinn nicht gut erklären und denken auch hier an ungenügende Accommodation der Versuchsbakterien an die gebotenen Ernährungsbedingungen.

Wir glauben auch in diesem Falle, daß die Durchsicht der genau beschriebenen Versuche selbst uns der weiteren Besprechung davon überheben wird.

6. Versuche über die Nitrifikation des freien Stickstoffs.

Die Lösung: Leitungswasser 100, Glukose 1, K^2HPO^4 0,05 wurde am 23. Dez. 1901 mit der 26. Ueberimpfung unserer Mannitrohkultur geimpft. Aus dem Vergleich mit Parallelkulturen ergab sich, daß darin am 23. Jan. 1902 ca. 70 mg freier Stickstoff pro Liter gebunden war, wobei sich ein dicker Chroococcum-Schleim gebildet hatte mit sehr schwach alkalischer Reaktion. Der gebundene Stickstoff muß der Hauptsache nach als Chroococcum-Protoplasma gegenwärtig gewesen sein. Am 23. Januar wurde ein wenig frische Gartenerde eingeimpft, erstens um solche Bakterien einzuführen, welche das Bakterieneiweiß von Chroococcum zu Ammonsalz abbrechen konnten, und zweitens um die Fermente der Nitrifikation neu einzuführen. Nach 3 Wochen konnte eine deutliche Nitritbildung beobachtet werden und Mitte März 1902 war kein Nitrit mehr nachzuweisen, sondern nur Nitrat und dieses in reichlicher Menge. Auf kolorimetrischem Wege wurde, vermittelst der Diphenylamin-Schwefelsäure-Reaktion gefunden, daß im Filtrat der Flüssigkeit im ganzen ca. 250 mg pro Liter Nitrat (als KNO^3 berechnet) zugegen war. Weil die 70 mg N 500 mg KNO^3 entsprechen, war also ungefähr die Hälfte des assimilierten freien Stickstoffs in ca. 7 Wochen nitrifiziert. Weil dieser Stickstoff jedoch vollständig gegenwärtig gewesen sein muß in dem Körpereiweiß der neugebildeten Bakterienmasse, speziell von Chroococcum, ist hierdurch zugleich ein ungefähres Maß gegeben für die Schnelligkeit, womit eben der im Chroococcum-Leibe als Eiweiß vorkommende Stickstoff nitrifizieren kann.

Wir haben diese Versuche mehrere Male wiederholt und stets mit dem gleichen Erfolge.

Bei der Ausführung davon ist es ratsam, sich nicht allein zu verlassen auf die qualitative Reaktion mit Diphenylaminschwefelsäure, sondern, wie angegeben, quantitativ vorzugehen, und zwar aus folgendem Grunde:

Wenn man frische Erde ohne weitere Zufügung in Leitungswasser bringt, so gelingt anfangs die Diphenylamin-Schwefelsäure-Reaktion nicht, selbst nicht, wenn 5—10 g Erde mit 50 ccm Wasser vermischt werden. Doch sitzen in der Erde Stoffe, welche geeignet sind, durch die Verdünnung mit Wasser und durch Lüftung ohne jede weitere Zufügung von Salzen oder anderen Körpern zu nitrifizieren. Nach einigen Tagen wird dadurch die Diphenylaminreaktion angezeigt.

Die Grenze der Empfindlichkeit wurde aber bei 0,5 g Erde in 50 ccm Wasser gefunden, so daß, wenn noch weniger Erde wie dieser Betrag verwendet wurde, überhaupt kein Nitrat und Nitrit mehr angezeigt werden konnte. Wenn man also für den beschriebenen Versuch mehr als 50 ccm Wasser und weniger als 0,5 g Erde für die ursprüngliche, das heißt, für die Stickstoffbindung notwendige Impfung verwendet hat, so zeigt schon bei positivem Erfolg der genannten Reaktion dieses qualitative Resultat ohne

jede quantitative Bestimmung an, daß atmosphärischer Stickstoff nitrifiziert ist[1]).

Zusammenfassung und Schluß.

Die zwei wichtigsten Accumulationsverfahren von Oligonitrophilen, welche zu Bakterienkulturen führen, wodurch eine kräftige Bindung des freien Stickstoffs stattfindet, sind: Erstens, das Verfahren der vollständigen Rohkultur; zweitens, das Verfahren der partiellen Rohkultur.

Die vollständige Rohkultur wird, wie folgt, eingerichtet: 100 Leitungswasser, 2 Mannit und 0,05 K^2HPO^4, in dünner Schicht in einem geräumigen Erlemeyer-Kolben wird mit frischer Gartenerde infiziert und bei 23—28° C kultiviert. Am 3. Tage entsteht eine Bakterienkultur, worin Chroococcum vorherrscht. Nach ein paar Ueberimpfungen sind die meisten Verunreinigungen zwar verschwunden, doch bleiben immer einzelne Fluorescenten, welche in der Mannitlösung keine Säure erzeugen. Impft man dann in 100 ccm Leitungswasser 2 Glukose, 0,05 K^2HPO^4, so entsteht die Kombination Chroococcum + Granulobacter (in mehreren Arten) + Radiobacter und daraus erzielt man den höchsten bisher gewonnenen Ertrag von 7 mg gebundenem Stickstoff pro g assimiliertem Zucker. Hieraus kann nicht weiter übergeimpft werden in die gleiche Glukoselösung wegen der Säurebildung durch die Fluorescenten, wodurch das Wachstum eingeschränkt wird.

Setzt man die Ueberimpfung dann aber wieder in die Mannitlösung fort, oder befolgt man die Methode der „Wechselkultur“, wobei Acetat als Kohlenstoffnahrung gegeben wird, welches von Granulobacter nicht verwendet werden kann, so kommt man schließlich auf die Kombination von den zwei sporenfreien Arten

---

1) Historische Notiz. Nachdem unsere Abhandlung über Oligonitrophilie in No. 16 des Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. VII. 1901 erschienen war (meine Mitteilungen über Oligonitrophilie in der Akademie der Wissenschaften zu Amsterdam, datieren vom 30. März und 25. Mai 1901), machte Herr Dr. W. Krüger aus Halle a. S. uns in einem Schreiben vom 6. Sept. 1901 auf einen Passus in seiner Arbeit in den landwirtschaftl. Jahrb. 1900. p. 701 aufmerksam, welcher hier wörtlich folgt: „Hier mag zunächst noch ein Versuch kundgegeben werden, der dafür Zeugnis ablegt, daß unter denselben Verhältnissen, unter welchen wir die Algen züchteten“ (Herrn Krüger's Arbeit beantwortet die Frage: „Sind niedere chlorophyllgrüne Algen imstande, den freien Stickstoff zu assimilieren?“ in negativem Sinne) „bei Organismen, welchen das Vermögen eigen ist, sich des freien Stickstoffs der Luft als Stickstoffquelle zu bedienen, Stickstoffaufnahme aus der Atmosphäre stattfindet. Von mehreren Versuchen sei hier das Ergebnis eines derselben mit einem aus dem Boden gezüchteten Organismus angeführt. Dann wurde wieder eine Nährlösung ohne Zusatz von Stickstoffverbindungen, der pro 100 ccm nur 0,0003 g Stickstoff enthielt, verwendet.“ Es zeigten nach 62 Tagen 100 ccm eine Zunahme von 4,6 mg, 200 ccm von 6,8 mg und 300 ccm von 8,5 g. Herr Krüger fährt dann fort: „Es wurden also nicht unbeträchtliche Mengen von elementarem Stickstoff assimiliert und die Entwickelung der Kulturen machte keineswegs den Eindruck, daß dem Organismen irgend ein wichtiger Nährstoff nicht zu Gebote stand.“ Der Organismus, wovon hier gesprochen wird, war Chroococcum, wie wir konstatieren konnten, durch eine Kulturröhre, welche Herr Krüger seinem Briefe beigelegt hatte, worin sich allerdings keine Reinkultur, sondern ein kompliziertes Mikrobengemisch vorfand.

Chroococcum + Radiobacter, welcher in der Mannitlösung ca. 4 mg Stickstoff pro Gramm assimilierten Mannit binden kann. Granulobacter ist darin nicht mehr gegenwärtig, jedoch bleiben auch dann noch Fluorescenten nachweisbar und in geringer Anzahl auch Aërogenes und Coli.

Das Verfahren der partiellen Rohkultur wird, wie folgt, ausgeführt: Entweder 100 Leitungswasser, 2 Mannit, 0,05 K^2HPO^4, oder 100 Leitungswasser, 2 Glukose, 2 Kreide, 0,05 K^2HPO^4 wird infiziert mit Chroococcum + parteurisierter Erde und es wird wieder bei 23—28° C kultiviert. Hierbei entsteht nach wiederholter Ueberimpfung die stickstoffbindende Kombination Chroococcum + Granulobacter in mehreren Arten und als Verunreinigung einzelne andere accessore Sporenbilder. Der höchste bei dieser Versuchsanstellung erzielte Ertrag an gebundenem Stickstoff, nämlich 5 mg gebundener N pro g Zucker (Vers. 49) wurde mit Chroococcum + dem aëroben, aber stark mikroaërophilen Granulobacter reptans erhalten.

Alle Granulobakterien sind mehr oder weniger mikroaërophil. Das Maß dieser Eigenschaft ist sofort den Kolonieen auf Glukoseagar vermittels der Jodreaktion anzusehen, indem die am meisten mikroaërophilen auch am meisten Granulose enthalten und sich deshalb dunkelblau färben, während die weniger mikroaërophilen (mehr aëroben) mit Jod lichtblau werden [1]).

Ueberhaupt scheint die Assimilation des freien Stickstoffs parallel zu gehen mit Mikroaërophilie bei den in Bezug kommenden Arten. Diese Eigenschaft äußert sich dadurch, daß im Kulturtropfen in der feuchten Kammer, entweder durch Wachstum oder durch Bewegung, Anhäufungen entstehen, welche nicht im Meniscus selbst, sondern in einiger Entfernung davon nach innen vorkommen, wo ein geringerer Druck der gelösten Luft herrschen muß. Die Stimmung für dieses niedere Druckoptimum geht, wenigstens bei Granulobacter, bei fortgesetzter aërober Kultur erblich verloren und damit verschwindet der für die Stickstoffbindung notwendige Accommodationszustand. Aus diesem Verlust des Accommodationszustandes bei aërober Kultur muß erklärt werden, warum die Kombinationen von bekannten reinkultivierten Arten quantitativ nur dann viel Stickstoff binden, wenn sie frisch aus den Rohkulturen isoliert sind.

Das Hauptresultat der vorliegenden Untersuchung ist nach unserer Meinung der Nachweis, daß, wie schon in der Einleitung hervorgehoben, bei der Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien zunächst eine lösliche Stickstoffverbindung entsteht, welche sich außerhalb der aktiven Organismen in die Umgebung verbreitet und dort auch für andere Mikroben [2]) erreichbar ist.

---

1) Durch diesen einfachen Versuch kann man „Alinitbakterien“ erhalten, welche nicht nur in der Phantasie des Forschers, sondern auch wirklich imstande sind, freien Stickstoff zu binden, entweder ganz allein oder bei Gegenwart von Chroococcum. Hierbei muß man sich aber hüten, die Granulosereaktion nicht zu verwechseln mit der für die Megatherium-Gruppe so auffallenden Glykogenreaktion.

2) Oder, wie im Falle von Radicicola für eine höhere Pflanze.

Warum diese bisher in ihrer chemischen Natur noch nicht erkannte Verbindung im allgemeinen so schwierig von den erzeugenden Arten selbst, und dagegen so leicht durch Chroococcum aufgenommen und für Wachstum verwendet wird, ist noch nicht aufgeklärt. Allerdings sind die Beziehungen von letzterer Art zu den Stickstoffverbindungen überhaupt exceptionelle, nicht nur in Bezug auf die außerordentliche Gier, womit sie die geringsten Spuren dieser Stoffe aus den Lösungen an sich zieht, sondern auch in Bezug auf die qualitativen Einwirkungen, welche sie darauf ausübt. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß Chroococcum eine der wenigen bisher bekannten Bakterien ist, welche aus Nitraten und Nitriten direkt Ammon erzeugen können[2]), was aber durch Chroococcum aus den ersteren mit solcher Intensität stattfindet, daß der Nachweis der dabei sicher stattfindenden vorübergehenden Nitritbildung unter günstigen Wachstumsverhältnissen überhaupt nicht gelingt[2]). Soviel uns bekannt, steht Chroococcum in dieser Beziehung allein.

Zwar wird auch von gewissen anderen Bakterien NH^3 aus Nitraten und Nitriten hervorgebracht, jedoch auf eine andere Weise, wie aus folgender Uebersicht, wobei die von lebenden Kartoffeln isolierten B. subtilis und B. mesentericus mit Chroococcum in Parallele gebracht sind, hervorgeht. Dabei ist Kulturflüssigkeit

1 Leitungswasser 100
Calciummalat 2
K^2HPO^4 0,05
KNO^3 0,05
2 Wie 1, aber KNO^2 anstatt KNO^3.
3 Wie 1, aber Mannit anstatt Calciummalat.
4 Wie 3, aber KNO^2 anstatt KNO^3.

	Kulturflüssigkeit			
	1 CaMal KNO^3	2 CaMal KNO^2	3 Mannit KNO^3	4 Mannit KNO^2
Chroococcum	NH^3, kein KNO^2	NH^3	NH^3, kein KNO^2	NH^3
Mesentericus vulgatus	NH^3 und KNO^2	kein NH^3	NH^3 und KNO^2	NH^3
Subtilis	NH^3 und KNO^2	kein NH^3	Kein NH^3, nur KNO^2	Kein NH^3

Wie zu erwarten war, gehört Polymyxa mit seinen Varietäten Tenax und Mucosum ebenso zu den Ammonbildern aus Nitraten und Nitriten, wie Mesentericus. Für Sphaericum

1) Dagegen ist die Ammonbildung aus Amiden und Eiweißkörpern eine bei den Bakterien sehr allgemein vorkommende Funktion und wohlbekannt durch die Krystalle des Ammonmagnesiumphosphats alter Agar- und Gelatinekulturen der verschiedensten Arten.

2) Bei verlangsamtem Wachstum und ungünstigen Lebensbedingungen konnte allerdings auch bei Chroococcum Nitritbildung aus Nitrat nachgewissen werden.

und Reptans ist dieser Nachweis noch nicht gelungen, wahrscheinlich aber wegen mangelhafter Versuchsanstellung.

Aus diesen Angaben ersieht man, daß die Ammonbildung aus KNO^2 bei Malat als Kohlenstoffquelle nur für Chroococcum nachgewiesen werden konnte, und nicht für beide anderen Arten, welche sich dagegen durch die kräftige Nitritbildung von Chroococcum scharf unterscheiden.

Denitrifikation, das heißt Entbindung von freiem Stickstoff aus Nitriten, findet weder durch Chroococcum noch durch die beiden anderen Arten statt.

Die Frage, ob das unbekannte nach außen abgeschiedene Assimilationsprodukt des freien Stickstoffs vielleicht Nitrit sein könnte, wurde vielfach erwogen, jedoch konnte in den Kulturen während der Stickstoffbindung keine Spur von Nitriten entdeckt werden, und ebensowenig Ammon bei Gegenwart von Chroococcum. Die Annahme, Nitrite seien zwar vorübergehend gebildet, jedoch sofort verschwunden, weil für Ammonbildung durch Chroococcum und das Ammon für Wachstumszwecke durch diese oder andere Bakterien verwendet, ist nicht geeignet, theoretisch zu befriedigen, weil die Stickstoff assimilierenden Granulobakterien sich schwierig mit ihrem eigenen Assimilationsprodukt, leicht dagegen mit Nitriten zum Zwecke ihres Stickstoffbedürfnisses ernähren können.

Die Möglichkeit, daß vielleicht ein Salz gebildet werde von Hydrazin oder Hydroxylamin wurde gleichfalls vorausgesetzt und auf Grund der reduzierenden Eigenschaften dieser Körper die entsprechenden Reaktionen versucht, jedoch ohne daß ein bestimmtes Resultat erhalten wurde.

Schließlich sei hier noch betont, daß Chroococcum unter allen Umständen, auch bei Gegenwart von Glukose und anderen Zuckerarten, ein Alkalibilder ist, was übrigens ebenfalls zutrifft für Radiobacter.

Aufklärung in Bezug auf den Chemismus der Stickstoffbindung geben diese Betrachtungen zwar nicht, doch beziehen sie sich auf Thatsachen, die eine dereinstige Erklärung vielleicht anbahnen.

Wir betrachten es als gesichert, daß alle Arten von Granulobacter, anaërobe und aërobe, unter Umständen imstande sind, die von ihnen erzeugte Stickstoffverbindung, wenn auch schwierig, für ihr eigenes Wachstum zu verwenden, also in Reinkulturen den freien Stickstoff zu binden. Winogradsky hat letzteres schon für das Buttersäureferment angegeben und wir konnten uns sowohl für dieses, wie für das Butylferment von der Richtigkeit dieser Angabe überzeugen. Was die aëroben Formen dieser Gattung anbelangt, so gelang uns der Nachweis für einen bestimmten Stamm von Polymyxa, doch waren andere Isolierungen nicht imstande, ohne Hülfe von Chroococcum in unseren stickstofffreien Kulturflüssigkeiten zu wachsen. Auch eine Reinkultur von Mesentericus vulgatus, welche mit Hilfe von Scheiben lebender Kartoffeln aus Erde isoliert war, assimilierte in einem Falle, ohne Mithilfe von anderen Bakterien, freien Stickstoff, doch war das Vermögen schon nach einer Ueberimpfung verloren.

Alles weist darauf hin, daß auch im Boden eine durch die Stickstoff assimilierenden Bakterien erzeugte Verbindung sich nach allen Seiten fortbewegt und also auch von anderen Organismen als Stickstoffnahrung verwendet werden kann. Besonders Chroococcum wird auch im Boden dadurch eine wichtige Rolle erfüllen, und wir haben gezeigt, daß das Protoplasma dieser Bakterie leicht in Ammon verändert und dann nitrifiziert werden kann, wodurch es gelingt, in kurzer Zeit den freien atmosphärischen Stickstoff in Nitrat umzuwandeln.

Zur Erklärung der außerordentlichen Förderung, welche Chroococcum auf die künstliche Kultur speziell von Granulobacter ausübt, muß noch daran erinnert werden, daß letztere Arten Säure erzeugen, welche ihre eigene Funktion hemmt, durch Chroococcum aber teilweise neutralisiert, anderenteils oxydiert werden kann.

Was Radiobacter betrifft, so muß auch diese Art ein zunächst an die Umgebung abgegebenes Produkt aus dem Stickstoff erzeugen, welches, wenigstens für Chroococcum, als Stickstoffnahrung dienen kann, und sicher auch für Radiobacter selbst, wenn Chroococcum gegenwärtig ist. Ueberhaupt erinnert das Verhältnis zwischen diesen beiden Bakterien in hohem Maße an dasjenige von dem mit Radiobacter nahe verwandten Radicicola zu der Papilionaceenpflanze.

Die Beobachtung, daß gewisse Varietäten von Radiobacter kräftig denitrifizieren, das heißt aus Nitraten und Nitriten bei geeigneten Nahrungsbedingungen freien Stickstoff abspalten, hat uns Veranlassung gegeben, die Frage zu stellen, ob vielleicht auch andere denitrifizierende Bakterien bei der Symbiose mit Chroococcum den freien Stickstoff binden können, doch haben wir dabei keinen positiven Erfolg erreicht.

Bakteriologisches Laboratorium des Polytechnikums.

Delft, 14. Juni 1902.

Nachdruck verboten.

Clostridium Pastorianum, seine Morphologie und seine Eigenschaften als Buttersäureferment.

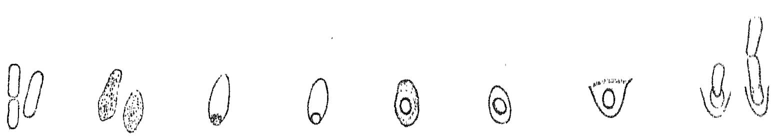
Von Prof. Dr. **S. Winogradsky** in St. Petersburg.

Mit 1 Tafel und 1 Figur im Text.

Im Jahre 1895 habe ich einen Bacillus, den ich im Boden entdeckte und Clostridium Pastorianum benannte, ausführlich untersucht und nachgewiesen, daß dieser Organismus, ein Buttersäureferment, in stickstofffreien Medien leben und freien Stickstoff assimilieren kann, indem er gleichzeitig Zucker in gewissem Verhältnis zur Stickstoffassimilation vergärt. Abgesehen von dem komplizierten und damals noch unaufgeklärten Falle von der Stick-

stoffassimilation seitens der Leguminosen in Symbiose mit Bakterien und dem noch gänzlich unklaren von der Assimilation seitens der Algen, war das der erste Fall, wo man bei einem bestimmten Organismus, einer Bakterienspecies, diese Fähigkeit nachwies und durch direkte Versuche den Mechanismus der Stickstoffassimilation studieren konnte. So ist es denn verständlich, daß meine erste Abhandlung über das Thema [1]) ganz dieser Frage gewidmet wurde und daß ich die sonstigen Charaktere des Mikrobiums, nämlich seine Morphologie und seine Eigenschaften als Buttersäureferment, nur kurz berührte. Ich wollte dies bald nachholen, wurde aber durch verschiedene Umstände abgehalten und es blieb die Arbeit bis jetzt unpubliziert. Da ich aber von Kollegen nicht selten Anfragen über die Merkmale des betreffenden Mikroorganismus bekomme, welche mir zeigen, daß die Isolierung und die Identifizierung desselben infolge meiner vielleicht zu kurz gehaltenen Beschreibung Schwierigkeiten bietet, so entschließe ich mich, nachträglich doch diese Lücke auszufüllen, um so mehr, als der Organismus in mancher Hinsicht unser Interesse verdient.

Was seine Morphologie anbetrifft, so geben wir gleich, um die Beschreibung möglichst zu verkürzen, das anbei stehende Schema seines Entwickelungscyklus. Die mit 1 bis 8 numerierten Figuren stellen die aufeinanderfolgenden Wachstumsstadien des Bacillus dar, und auf diese nehmen wir in der folgenden Beschreibung Bezug. Dieselben wird man dann auf den Photogrammen leicht erkennen und wiederfinden.



1 2 3 4 5 6 7 8

Stadium 1. Junge Bacillen, meistens 1,2—1,3 μ dick, 1,5—2 μ lang; bleiben bei günstigen Bedingungen gewöhnlich kurz infolge der wiederholten lebhaften Teilungen; sie sind meistens gerade, cylindrisch, mit abgestutzten Enden; färben sich rasch und intensiv mit gewöhnlichen basischen Anilinfarben. Jod läßt sie gelb. Das ist das Stadium der Vermehrung des Mikrobiums, das eigentliche Propagationsstadium. Dies dauert, durch immerwährende Zweiteilungen neu entstehend, bis die Vermehrung und auch die Gärung ihren Höhepunkt erreicht hat. Mit dem Aufhören der Teilungen wird das nächste Stadium eingeleitet.

Stadium 2. Die verlängerten Stäbchen, statt sich zu teilen, haben sich zu Spindelform aufgebläht, indem gleichzeitig ihr Plasma das charakteristische körnige Aussehen bekommt. Anilin-

1) Recherches sur l'assimilation de l'azote libre de l'atmosphère par les microbes. (Archives des sciences biologiques. T. III. Lf. 4.)

farben färben jetzt schwächer, durchsichtiger, dagegen ruft Jod die intensivste violettbraune Färbung hervor.

Stadium 3. Es tritt an einem Pole der Spindel ein sporogenes Korn (in Einzahl) auf, das gleich bei seinem Auftreten die ovale Form der fertigen Sporen besitzt, doch kleiner ist; Methylenblau färbt es fast schwarz, die übrigen Teile der Zelle dagegen hellblau. Umgekehrt wird durch Jod der durch Methylenblau hell gefärbte Teil ganz dunkel violettbraun, das sporogene Korn fast farblos.

Stadium 4. Das sporogene Korn wird größer und rundet sich ab; es färbt sich jetzt nur schwer mit gewöhnlichen Anilinfarben, behält aber schon etwas die Ziehl'sche Färbung. Die Mutterzelle färbt sich noch mit Jod, aber schwächer.

Stadium 5. Die Spore bekommt ihre entgiltige Größe und liegt meistens nicht mehr polar, sondern mehr in der Mitte der Mutterzelle und ist mit einem hellen Hof umgeben. Jod giebt nur noch in der Peripherie einen schwachen violetten Saum oder giebt der Zelle ein eigentümliches violett marmoriertes oder gesprenkeltes Aussehen.

Stadium 6 beginnt mit dem Verschwinden der charakteristischen Jodfärbung. Die Spore ist reif und trotzdem zeigt die dieselbe umschließende Mutterzelle keine Zeichen der Verquellung oder Zerstörung, wie man das so allgemein bei der endogenen Sporenbildung der Bacillen beobachtet; sie ist nunmehr mit einer hyalinen Substanz (um die Spore herum) gefüllt, immer aber scharf contouriert; durch Anilinfarben wird ihre Membran gut gefärbt, die hyaline Substanz dagegen kaum.

Nur wird, höchst wahrscheinlich durch die aufquellende „hyaline Substanz", die Membran der Mutterzelle an einem Pole gesprengt und weit geöffnet: Stadium 7. Die reife Spore, 1,6 μ lang, 1,3 μ breit, liegt jetzt in einem abgerundet dreieckigen Gallertpolsterchen, der „Sporenkapsel", eingebettet, das an zwei Seiten scharfe und an der dritten — der Oeffnung — verwaschene Contouren zeigt. Am schärfsten treten diese Verhältnisse hervor, wenn man die reifen Sporen nicht in Flüssigkeit, sondern in feuchter Luft untersucht, indem man also das Wasser von unten unter dem Deckglase wegsaugt oder fast austrocknen läßt (s. Photgr. 2). Es kann selbstverständlich kein Zweifel aufkommen, daß diese „Sporenkapsel" ein Produkt der Metamorphose der Mutterzelle ist.

Sobald man frisch gereifte, sowie mehrere Jahre alte Sporen in frische zuckerhaltige Nährlösung unter anaëroben Bedingungen bringt, beginnt sofort die Keimung, welche in ganz charakteristischer Weise erfolgt. Die Spore schwillt bedeutend an und wird, als erstes Zeichen der beginnenden Keimung, durch wässeriges Methylenblau oder Gentiana färbbar. Dann wird die Sporenwand an dem gegen die Kapselöffnung gerichteten Pole der Spore durchlöchert, und das junge Stäbchen tritt, die Sporenwand zurücklassend, aus dieser und der Sporenkapsel heraus: Stadium 8. Es ist bemerkenswert, daß die polare Keimung immer in der Richtung gegen die Kapselöffnung erfolgt,

woraus zu erhellen scheint, daß diese Richtung von dem Bau der Sporenkapsel bestimmt wird. Manchmal beginnt das noch in der Kapsel teilweise steckende Stäbchen sich sofort zu teilen, und auf diese Weise entstehen Bacillenpaare, sowie kurze Ketten, auf deren einem Ende die Sporenkapsel wie ein Fingerhut noch aufsitzt. Es ist nicht schwer, jeder Art Keimungsbilder in Fülle zu beobachten; es genügt, den Kreidebodensatz alter Kulturen in ein Röhrchen mit 2-proz. Zuckernährlösung (mit Pepton oder Ammoniak) einzubringen und das Röhrchen im sauerstofffreien Raume bei 30° stehen zu lassen: Dann untersucht man bei Zeichen einer beginnenden Gasentwickelung, etwa nach 20 Stunden. Oder man setzt einfach etwa 1 g Glykose zu einer ausgegorenen kombinierten (gemischten) aëroben Kultur des Clostridium Pastorianum und läßt etwa 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Man findet dann nicht selten in einem Präparate alle möglichen Keimungsbilder, die den Prozeß in allen Details lückenlos zu reproduzieren gestatten.

Merkwürdig, daß nach Auskeimung der Sporen die zurückgebliebene Sporenwand samt Sporenkapsel noch eine Zeit lang so deutlich sichtbar bleibt, daß man zweifeln möchte, daß man nur leere Häute vor sich hat.

Wie man sieht, zeigt die Morphologie von Clostridium Pastorianum einige interessante Eigentümlichkeiten, welche ihm den Charakter eines höchst differenzierten bakteriellen Organismus verleihen. Wenn auch zwischen ihm und verwandten Arten, wie Clostridium butyricum, Amylobacter-, Granulobacter-Arten, bezüglich der Form und des Wachstums der jungen Stäbchen, der Verwandlung derselben in die Clostridium-Form, dem Auftreten der amyloiden Substanz innerhalb derselben, dem Sporenbildungsprozeß, soviel man urteilen kann, vollkommene Analogie zu herrschen scheint, so treten doch bei dem Sporenreifungsprozeß ganz charakteristische Besonderheiten hervor: Die Differenzierung der Mutterzelle zu einer „Sporenkapsel“, die „Oeffnung“ derselben, der Bau der Spore und der eigentümliche, durch diesen Bau bedingte Keimungsprozeß. Zu bemerken ist noch, daß diese Sporenkapseln, einmal gebildet, ebenso beständig sind, wie die Sporen selbst. Diese können aber mehrere Jahre lang in der abgegorenen Flüssigkeit konserviert werden und bleiben unverändert und gut keimungsfähig. Ich habe jetzt bereits 7 Jahre altes Sporenmaterial und zeigen die Sporen immer ebenso schöne Sporenkapseln als am Anfange.

Zur besseren Illustration der geschilderten morphologischen Verhältnisse soll die beigegebene Tafel mit Photogrammen dienen. In Fig. 1 sieht man die Stadien 1, 2, 3, d. h. kurze, sich lebhaft teilende, längere, bereits zu Spindeln anschwellende, mit hellerem körnigen Inhalt, schließlich auch einen polar gestellten sporogenen Korn tragende Stäbchen. Stadium 4, 5, 6 sind in Fülle in Fig. 3 und 4 zu finden, obgleich das Bild hier etwas abnorm aussieht, worüber unten mehr. Fig. 2 — ein Präparat in feuchter Luft — zeigt in deutlicher Weise die Struktur der reifen Sporengebilde.

Endlich ist es auch Herrn Omeliansky gelungen, auch den Sporenkeimungsprozeß Schritt für Schritt photographisch zu illustrieren. In Fig. 7a sieht man die ersten Anfänge der Keimung; die nicht mehr stark lichtbrechende aufgequollene, mit wässerigem Methylenblau gefärbte Spore; auf b — das aus der Spore hervortretende, auf c — das bereits aus der Sporenwand hervorgetretene, aber noch in der Sporenkapsel steckende Stäbchen. In Fig. 5 sieht man neben noch ruhenden Sporen und eben gekeimten jungen Stäbchen alle Keimungszustände nebeneinander: etwa 5a und etwa 10b und c, darunter längere Bacillenpaare oder Ketten, mit einem Ende noch in der Spore steckend.

Ein noch nicht ganz aufgeklärter Punkt ist die Schwärmerbildung bei Clostridium Pastorianum. Einige Male habe ich sie ganz deutlich beobachtet. Beweglich sind hauptsächlich die jungen Stäbchen und zwar einzeln oder paarweise unter starker Rotation des einen Körperendes. Seltener sieht man spindelförmige Individuen sich bewegen, noch seltener bereits sporogene Körner tragende. Am ehesten kann man Schwärmer treffen, wenn man aus anaëroben, durch reinen Stickstoff durchzogenen, lebhaft gärenden Kulturen einen Tropfen Flüssigkeit schöpft und sofort unter dem Deckglas untersucht. Einige darauf gerichtete Versuche, massenhafte Schwärmerbildung hervorzurufen, haben nicht zum Ziele geführt. Daher ist es auch nicht gelungen, Geißelfärbung zu bekommen. Zweifellos ist die Schwärmfähigkeit, obgleich vorhanden, doch eine sehr begrenzte.

Den geschilderten Entwickelungsgang kann man als den normalen bezeichnen. Ihn beobachtet man vorzugsweise bei Kulturen in stickstoffarmen oder stickstofffreien, mit einem Ueberschuß von Kreide versetzten Zuckerlösungen, unter aëroben Bedingungen — und dann natürlich in Gesellschaft von aëroben Arten — oder in anaëroben, indem man durch die Lösung einen Stickstoffstrom unterhält.

Auf Kartoffel und Mohrrübe in Reinkultur im Vakuum oder sauerstofffreiem Raume sehen die Wuchsformen des Bacillus meistens etwas anders aus: Statt der kurzen, cylindrischen, geraden Stäbchen des Propagationsstadiums treten hier oft längere und meistens auch dickere Stäbchen oder Fäden auf, nicht selten vibrionenartig gekrümmt und gewunden. An den Fäden beobachtet man manchmal einen seltsamen Vorgang, nämlich die Abschnürung von kleinen kokkenartigen Gebilden in mäßiger Menge, welche, soviel ich weiß, nicht mehr entwickelungsfähig sind. Die Anschwellung von Stäbchen und Fäden zur Clostridium-Form beginnt früh, geht aber unregelmäßig vor sich: Bald findet man kurze, stark aufgeblähte, bald längere und schlankere Spindeln, bis zu sehr großen, eher wie Involutionsformen aussehenden angeschwollenen Fäden, auch krumme Gebilde etc. Die Sporenbildung geht nur teilweise normal vor sich; ein Teil der aufgeblähten Formen kommt überhaupt nicht zur Sporenbildung und stirbt ab, so daß lebende Zellen von abgestorbenen im Zerfallen begriffenen, umgeben sind [1]).

---

1) Da von dem Mikrobium bewachsene Kartoffeln und Möhren einen

Die Photogramme 3 und 4 geben charakteristische Bilder der Kartoffelkulturen. Fig. 3 stellt ein jüngeres, Fig. 4 ein älteres Stadium vor. Auf der ersteren sieht man alle die eben geschilderten Vorgänge: Längere Stäbchen und Fäden, kokkenartige Gebilde, kürzere und längere Clostridium-Formen, zum Teil sporentragend, hie und da monströse Formen, Detritus u. s. w. Auf der letzteren fast nur Clostridienformen in verschiedenen Stadien der Sporenbildung.

Wenn man nach Auftreten dieser Abnormitäten die Kulturbedingungen unverändert beibehält, so werden die Degenerationserscheinungen immer ausgeprägter: Immer mehr wachsen die Stäbchen zu Fäden heran, wogegen die Clostridium-Bildung und mit ihm die Sporenbildung zurücktritt. Endlich wird das Mikrobium gänzlich asporogen. Ist einmal die Sporenbildung verschwunden, so gelang es uns nicht wieder, dieselbe zu restituieren. Es hatte sich dann gleichsam eine asporogene Varietät gebildet, in welcher man die frühere charakteristische Art kaum mehr erkannte. Nicht nur morphologisch war sie nicht mehr die frühere, sondern auch physiologisch, und das möchten wir besonders hervorheben. Man hatte nun eine „abgeschwächte“ Varietät vor sich, welche, was ihre Gärkraft und besonders ihre Fähigkeit, elementaren Stickstoff zu assimilieren, anbetrifft, nicht mehr leistungsfähig war.

Noch schlagender sind die Veränderungen, welche die Kultur unter den gewöhnlichen Bedingungen eines anaëroben Gärversuches im Wachstum von Clostridium Pastorianum hervorruft. Läßt man es in einer reichlich mit Pepton, Asparagin oder Ammoniak versetzten, 1 bis 2-proz. Glykoselösung in einem bis an den Pfropfen gefüllten Kolben wachsen, so tritt mehr oder weniger intensive Gärung ein, und der Zucker wird bei Gegenwart von überschüssiger Kreide vollständig vergoren. Doch die mikroskopische Untersuchung zeigt dann ein befremdliches Bild. Trotzdem die vergorene Lösung mit dem charakteristischsten Material reichlich geimpft war, sieht man jetzt nämlich nur langgliedrige Fäden und zwar in ganzen Knäueln, sonst aber nichts mehr, keine Clostridium-Formen und keine Sporen; nur hie und da bilden einzelne in dem Fadenverbande befindliche geschwollene Glieder die einzige Andeutung einer Weiterentwickelung. Auch das sonstige Aussehen der Fäden und ihre Färbbarkeitsverhältnisse lassen keinen Zweifel übrig, daß sie zum Teil abgestorben, zum Teil dem Absterben nahe sind. In der That gelingen Abimpfungen aus solchem Material nur selten. Es fragt sich nun, was die Ursache einer so rapiden Degeneration von Clostridium Pastorianum unter Bedingungen ist, die als für die anaëroben Buttersäurefermente sehr günstig angesehen werden können? Einen so ausgesprochen schädlichen

---

penetranten Buttersäuregeruch entwickeln und stark saure Reaktion zeigen, so lag die Vermutung nahe, diese der schädlichen Wirkung zu beschuldigen. In der That treten, wenn man die Kartoffel- und Rübenstücke vor der Sterilisation mit Kreidepulver anreibt, diese Abnormitäten weniger deutlich hervor.

Einfluß den Zerfallsprodukten von Zucker zuzuschreiben, zumal in einer so verdünnten Lösung, scheint ganz unwahrscheinlich, um so mehr als in derselben Zuckerlösung, mag sie stickstoffarm oder stickstofffrei sein, die Entwickelung anaërob in Reinkulturen ganz normal vor sich geht. Wären dann etwa die zugesetzten Stickstoffverbindungen daran schuld? Das scheint uns wohl möglich. Man könnte denken, daß das an das Wachstum ohne gebundenen Stickstoff angepaßte Clostridium Pastorianum einigermaßen bedeutende Mengen stickstoffhaltiger Nährstoffe nicht mehr erträgt: es wächst und gärt, doch gärt es sich regelmäßig zu Tode.

Ersetzt man Dextrose durch eine andere von Clostridium Pastorianum vergärbare Zuckerart, so bleibt das ohne Einfluß auf das Endresultat.

Erfahrungen dieser Art zeigen, wie wichtig es ist manchmal, genaue morphologische Kenntnisse zu haben über den Organismus, mit welchem man experimentiert. Stehen diese nicht zur Verfügung, so kann es leicht passieren, daß man degeneriertes Material zu Versuchen benutzt und daher sich falsche Vorstellungen über die normalen Eigenschaften des zu untersuchenden Organismus bildet. Indem wir schließlich an der Regel festhielten, nur mit normal wachsendem, reichlich sporenbildendem Material zu experimentieren, sind uns manche Mißerfolge erspart geblieben.

Was die Züchtung von Clostridium Pastorianum betrifft, so werden wir die von uns angewendeten Verfahren hier nur kurz anführen, indem wir bezüglich der Einzelheiten auf die citierte ausführliche Abhandlung verweisen.

Anaërob in Reinkulturen schien es am besten zu gedeihen unter folgenden Bedingungen: Nährflüssigkeit, stickstofffrei, enthaltend Dextrose 2 Proz. Ueberschuß von reiner frisch gewaschener Kreide.

Nährsalze:

Kaliumphosphat	1 g
Magnesiasulfat	0,2 g
Natriumchlorid	sehr geringe Menge
Ferrosulfat	
Mangansulfat	

Dest. Wasser (ammoniakfrei) 1 l.

Kulturgefäße: Waschflaschen (kleinere) oder sogenannte Drechsel'sche Flaschen mit aufgeriebenem Aufsatze, luftdicht zu einer Reihe verbunden, die mit dem Schloesing'schen Stickstoffentwickelungsapparate in Verbindung steht und mit einer konzentrierte Schwefelsäure enthaltender Waschflasche schließt. Die Flaschen werden mit Flüssigkeit nur zu $^2/_3$ gefüllt. Nach erfolgter Sterilisation im Autoklaven wird die erstere in der Reihe geimpft und durch einen stärkeren Stickstoffstrom die Luft aus dem ganzen System ausgetrieben. Nachdem die geimpfte Flasche in Gärung geraten ist, treibt man durch momentane vorsichtige Neigung derselben ein kleines Tröpfchen in die zweite, von dieser in die dritte u. s. w. Während der ganzen Versuchs-

dauer unterhält man einen langsamen Stickstoffstrom durch das System.

Bei den gewöhnlichen Bedingungen der anaëroben Gärversuche ist es natürlich notwendig, gebundenen Stickstoff zuzusetzen. Als solchen haben wir Ammoniak, Asparagin und Pepton benutzt. Ueber diese Versuche wird weiter unten berichtet.

Auf festem Substrat ist es leicht, eine Kultur zu bekommen auf Kartoffel und Mohrrüben anaërob in zugeschmolzenen, luftfreien Röhrchen, nach Roux, oder in Petri'schen, im Vakuum gehaltenen Schalen. Auf Kartoffel bilden sich warzenförmige erhabene graugelbliche Kolonieen, welche einen Durchmesser von 1 mm und darüber erreichen und einen penetranten Geruch nach Käse verbreiten. Auf Möhren treten Gärungserscheinungen in den Vordergrund: es bilden sich Schauminselchen, die schließlich zu einem die ganze Oberfläche bedeckenden, weißlichen Schleim zusammenfließen; hie und da sieht man festere Klümpchen, welche von den hervorspringenden Blasen hin- und hergestoßen werden.

Auf Zuckeragar ist es schwieriger, ordentliche Kulturen zu bekommen. Die Kolonieen bieten nichts Charakteristisches dar; übrigens wird die Gallerte zu schnell durch die Gasentwickelung zerklüftet.

Auf Nährgelatine gelingt es nicht, eine Kultur zu bekommen. Auf Nährbouillon verweigert das Mikrobium meistens auch das Wachstum. Einige Male schien es jedoch darin schwach zu wachsen.

Wie ich in einer früheren Arbeit gezeigt habe, gelingt es, diese exquisit anaërobe Species auch aërob in stickstoffarmer oder stickstofffreier, in etwa 1 cm tiefer Schicht ausgebreiteter Zuckerlösung zu kultivieren, jedoch nur unter der Bedingung, daß ihr andere aërobe Arten beigemengt werden. Die Natur derselben ist nicht gleichgültig; mit einigen Arten wächst das Clostridium Pastorianum besser, und ist der Ertrag an assimiliertem Stickstoff größer, mit anderen dagegen wird es ganz entschieden in seinem Wachstum gehemmt. Demgemäß ist es eine der Hauptbedingungen des Gelingens der gemischten Kultur, passende associerte Arten zu wählen. Bei Impfung mit Erde in die geeignete Nährlösung stellt sich oft das passendste Mikrobengemenge von selbst ein.

Nachdem wir nun die Morphologie von Clostridium Pastorianum und seine Kultur besprochen haben, müssen wir noch die Frage über seine Verbreitung im Boden, seinen Nachweis und die Isolierung besprechen.

Man findet diese Art nicht in jedem Boden. In Petersburger Erde haben wir sie ganz regelmäßig in jeder Probe gefunden. Es genügte, nur etwa 1 g frischer Erde in die erwähnte Dextrosenährlösung zu werfen, um nach ein paar Tagen bei Zimmertemperatur Gärung zu bekommen. Ein gleich aus der Kreideschicht unter einem Schauminselchen angefertigtes Präparat ließ auf den ersten Blick die charakteristische Art erkennen. Durch alle 2—3 Wochen wiederholte Umsaaten kann man das Material unter denselben Bedingungen jahrelang in Kultur erhalten. Nötigenfalls

isoliert man das Clostridium Pastorianum durch Erwärmen bis 75° (10 Min.) und nachherige anaërobe Kultur auf Kartoffel.

Parallel mit der Petersburger Erde haben wir wiederholt Erdproben aus Südrußland, Gouv. Podolien und Wolhynien, untersucht. Die verschiedenen Proben, welche der Beschaffenheit nach zum Teil schweren, zum Teil leichteren, humusreichen, sehr fruchtbaren Lehmboden vorstellten, waren an verschiedenen von einander entfernten Punkten entnommen, auf verschiedenen Feldern, so nach Brache, nach Weizen, Klee, Bohnen, im Garten, auf Wiesen u. s. w. Von 1893 bis jetzt hat der Schreiber dieser Zeilen, wie Herr Omelianski bis anderthalb Dutzend Bodenproben untersucht. Kein einziges Mal gelang es uns aber, das Petersburger Clostridium Pastorianum darin nachzuweisen. Trotzdem aber eine der Petersburger ganz ähnliche Art darin fehlte, beobachtete man bei Aussaat dieser Proben unter denselben Bedingungen dieselben Erscheinungen, d. h. eine intensive Gärung, Schaumbildung, Auflösung von Kreide, doch keinen so ausgesprochenen Buttersäuregeruch. Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl in den vergärten Lösungen zeigten auch eine deutliche Zunahme an gebundenem Stickstoff von ca. derselben Größe wie in Petersburger Kulturen. Die bakteriologische Untersuchung ließ uns als Ursache der Gärung den dicken Bacillus erkennen, welchen unser Photogramm No. 6 vorstellt. Die genauere Untersuchung seiner Entwickelung zeigte, daß er auch ein Clostridium ist, durch Jod sich blau färbt und Sporen, ähnlich der Petersburger Art, bildet. Er unterscheidet sich von demselben durch bedeutendere Dimensionen — Dicke der Stäbchen 1,6—1,8 μ, Länge der Sporen 1,9 μ, Dicke 1,5 μ — und noch dadurch, daß er bei den Bedingungen der aëroben gemischten Kultur nur eine sehr begrenzte Sporenbildung zeigt und manchmal fast asporogen erscheint. Auch scheint der von ihm hervorgerufene Gärungsvorgang verschieden zu sein. Für die Reinzüchtung bietet er viel größere Schwierigkeiten; thatsächlich ist es bis jetzt nicht gelungen, ihn auf irgend einem festen Substrat wachsen zu lassen. Infolge davon ist diese Clostridium-Art bis jetzt noch unvollständig untersucht, obgleich sie im Laboratorium seit Jahren als Clostridium aus Wolhynien bekannt ist. Offenbar vertritt sie daselbst dieselbe Funktion, welche anderswo durch Clostridium Pastorianum vertreten ist. Dies lehrt z. B. der folgende von Omelianski ausgeführte Versuch:

Vier breite Erlenmeyer-Kolben mit je 100 ccm stickstofffreier Nährlösung, 2 Proz. Dextrose enthaltend und mit je 4 g reiner, durch Fällung präparierter Kreide versetzt. Außerdem bekommt jeder je 1 Milligramm Stickstoff in Form von Ammonsulfat. Zwei von den Kolben werden aus einer unreinen Wolhynischen Kultur geimpft und beginnen nach 48 Stunden lebhaft zu gären; die übrigen zwei werden nicht geimpft und bleiben steril als Kontrolle. Alle vier werden während der ganzen Versuchsdauer unter einer geräumigen Glocke gehalten, worin nur Luft, die Schwefelsäure und Natron passiert hatte, Zutritt hatte. Nach 2 Wochen zeigen die Kulturkolben keine Spur von Zucker

mehr. Die mikroskopische Untersuchung zeigt eine üppige Entwickelung des erwähnten Mikrobiums und eine wenig bedeutende der ihm beigemengten Arten. Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl giebt das folgende Resultat:

Stickstoffgehalt der Kulturkolben	No. 1	5,88	mg
„ „	No. 2	6,02	„
„ der Kontrollkolben	No. 1	1,70	„
„ „	No. 2	1,77	„

Auf 1 g Dextrose werden also auch hier, wie bei Clostridium Pastorianum ca. 2 mg freien Stickstoff assimiliert.

In Pariser Erde dagegen haben wir unter denselben Bedingungen ein Buttersäureferment konstatiert, das der Petersburger Art viel ähnlicher ist und obgleich auch etwas größer, doch sich leicht als Clostridium Pastorianum-Varietät erkennen ließ. Weitere Untersuchungen, namentlich von verschiedenen Seiten, werden hoffentlich die Frage von der Verbreitung dieser Gruppe von Mikrobien aufklären.

Wenn wir jetzt zur Physiologie von Clostridium Pastorianum übergehen, so läßt sich diese Art kurz charakterisieren als ein obligat anaërobes Buttersäurement, das die Fähigkeit besitzt, ohne gebundenen Stickstoff zu wachsen und zu gären, indem es dabei freien Stickstoff zu assimilieren imstande ist. Indem wir bezüglich dieser letzten Funktion auf eine frühere Arbeit hinweisen, wollen wir für diesmal nur seine Gärfunktion näher ins Auge fassen und untersuchen, auf welche Körper sich seine Gärthätigkeit erstreckt und welche die Produkte der letzteren sind.

Zur Beantwortung der ersten Frage sind von Omelianski auf meine Veranlassung drei Versuchsreihen mit verschiedenen Substanzen ausgeführt worden. Sämtliche Substanzen waren in 2-proz. Lösung genommen. In jeder Versuchsreihe erhielt die eine Hälfte der Kulturen Stickstoff in Form von schwefelsaurem Ammoniak, die andere in Form von Pepton. Sämtliche wurden in sauerstofffreiem Raume bei 30° gehalten. Die drei Versuchsreihen haben vollständig übereinstimmende Resultate gegeben und lassen sich, wie folgt, resumieren:

In Gegenwart von Pepton werden vergärt: Dextrose, Rohrzucker, Lävulose, Inulin, Galaktose und Dextrin. Werden nicht vergärt: Milchzucker, Arabinose, Stärke, Gummi, Mannit, Dulcit, Glycerin und Calciumlaktat.

In Gegenwart von Ammon als einziger Stickstoffquelle werden von allen diesen Körpern nur Dextrose, Rohrzucker und Inulin angegriffen. Auch Dextrose manchmal etwas schwer und nicht konstant.

Ungeachtet ihrer Eigenschaft, elementaren Stickstoff zu assimilieren, ist diese Species fast ebenso empfindlich unter den gewöhnlichen Bedingungen eines anaëroben Gärversuches gegen die Qualität der Stickstoffnahrung, wie manche andere. Mit Ammoniakstickstoff geht die Gärung schwer vor sich und es werden nur die offenbar am leichtesten für das Mikrobium angreifbaren Stoffe vergärt.

Was die Frage nach den Produkten der Gärung anbetrifft, so wollen wir zuerst einen charakteristischen Versuch anführen, wo die Gärung in einer keine Spuren von gebundenem Stickstoff enthaltenden Nährlösung, aber unter reichlichem Zutritt von reinem Stickgas sich abspielte. Dazu wurden größere hermetisch schließende und zur Durchleitung von Gasen eingerichtete Apparate gebraucht, durch welche während der Gärung ein Strom von reinem Stickstoff unterhalten wurde.

Erster Versuch. Zwei Apparate zu einem System verbunden, das an einem Ende mit dem Stickstoffapparate kommunizierte, am anderen mit einer Schwefelsäure enthaltenden Waschflasche verschlossen war. Die Nährlösung enthielt nur Dextrose, Nährsalze, einen Ueberschuß von Kreide, und deckte den flachen Boden der Gefäße mit einer $1^1/_2$ cm dicken Schicht. Alle verwendeten Substanzen — Dextrose, Wasser, Salze — wurden sorgfältig gereinigt und enthielten keine durch die Analyse nachweisbaren Spuren von Stickstoff.

Gesamtmenge der nach Soxhlet bereiteten Dextrose	40,0 gr
„ der Salzlösung	1000 ccm

Aussaat von reinen Clostridium Pastorianum-Sporen am 23. Nov. und sofortige Verdrängung der Luft durch Stickstoff. Gegen den 1. Dez. stürmische Gärung, die am 13. Dez. nicht mehr bemerkbar ist. Es wurde sofort zur Analyse geschritten. Die Fehling'sche Probe ergab keinen Zucker mehr. Zur Bestimmung des assimilierten Stickstoffes wurde der ganze Bodensatz abfiltriert, getrocknet und nach Dumas verbrannt. Zu demselben Zwecke wurde die Hälfte des Filtrates unter vermindertem Druck in einem Kjeldahl'schen Kolben verdampft und nach Kjeldahl analysiert. Es wurde gefunden:

im Bodensatz	42,3 mg N
im Filtrat	11,3 „ „
Gesamtgewinn	53,6 mg N

Die Destillation ergab nur sehr geringe Menge von Alkoholen. Nach wiederholter Umdestillation und Aussalzen wurde nur etwa $^1/_3$ ccm einer öligen, nach Fusel riechenden Flüssigkeit erhalten, deren Siedepunkt bei 108° lag, also wahrscheinlich aus Isobutylalkohol bestand.

Die Bestimmung des gelösten Kalkes (Gesamtacidität) und das Fraktionieren der flüchtigen Säuren nach Duclaux ergab die Anwesenheit von nur zwei flüchtigen Säuren, der Buttersäure und Essigsäure, und erlaubte, ihr Molekularverhältnis und ihre absolute Mengen zu bestimmen.

Molekularverhältnis der Buttersäure zur Essigsäure $\frac{b}{a} = 2,6$

Gesamtmenge der Essigsäure	3,714 g
„ „ Buttersäure	14,164 „
„ „ flüchtigen Säuren	17,878 „

beträgt also 44,7 Proz. des vergärten Zuckers.

Durch Abdestillieren der Buttersäure und Bereitung des Kalksalzes wurde konstatiert, daß die Säure zur normalen Reihe ge-

hörte. Von nichtflüchtigen Säuren wurden nur minimale Spuren Milchsäure gefunden.

Dieser Versuch schien mir insofern erwähnenswert, als er in jeder Hinsicht typisch für Clostridium Pastorianum ist. Sowohl seine intensive Gärfähigkeit dem Zucker gegenüber, zumal in stickstofffreien Medium, als seine Fähigkeit, dabei gasförmigen Stickstoff zu assimilieren, sind hier zur vollen Geltung gekommen. Daß auch der Gärungsvorgang hier typisch verlief, werden die nächsten zu citierenden Versuche bestätigen.

Zweiter Versuch. Dieselbe Nährflüssigkeit, aber mit einer geringen Menge von Ammon versetzt. Keine Reinkultur, sondern ein Gemisch von Clostridium Pastorianum mit aëroben Arten. Freier Luftzutritt. Dasselbe Kulturgefäß, nur wird von Zeit zu Zeit durch Schwefelsäure und Natron gereinigte Luft durchgeleitet. Das Gefäß wird beschickt mit

Dextrose nach Soxhlet	20,00	gr
Kreide, gereinigte	15,00	„
Ammonsulfat	0,010	„
Nährsalzlösung	1 l	

Nach beendigter Gärung wird die Analyse ganz wie früher gemacht. Keine Spur von Zucker mehr.

Stickstoffgewinn (nach Abzug der initialen Menge) 24,4 mgr.

Die Bestimmung der Alkohole ergab etwa $^1/_2$ ccm einer bei 97,4° siedender Flüssigkeit (Propylalkohol). Die Bestimmung der molekulären Verhältnisse und der Mengen der flüchtigen Säuren nach Duclaux ergab:

$$\text{Verhältnis } \frac{b}{a} = 4{,}0$$

Essigsäure 1,313 g
Buttersäure 7,705 „
Zusammen 9,018 „ oder 45 Proz. der angewandten Zuckermenge.

Keine andere flüchtige Säure. Buttersäure normal. Von nichtflüchtigen Säuren geringe Spuren von Milchsäure.

Wie man sieht, ist der Charakter des Gärvorganges dem Wesen nach derselbe geblieben, obgleich die Bedingungen doch nicht unwesentlich verschieden waren.

Unter gewöhnlichen anaërobiotischen Verhältnissen haben wir im Gärungskolben zu verschiedenen Zeiten und mit verschiedenem Material eine Reihe von Versuchen ausgeführt, wobei wir als Stickstoffnahrung sowohl Ammoniak als Asparagin und Pepton gebrauchten.

(Schluß folgt.)

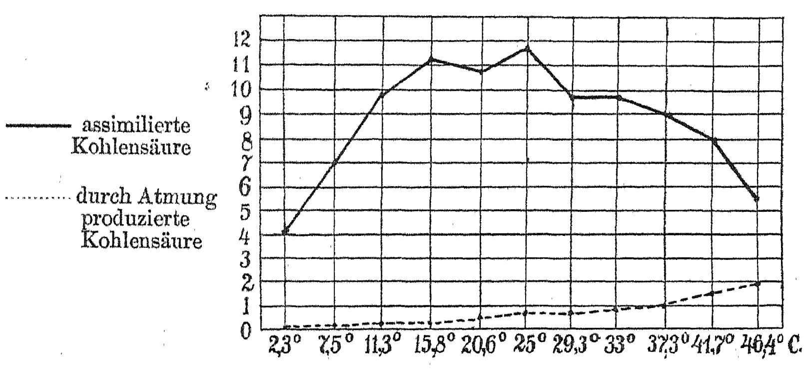
Ueber die Abhängigkeit der Assimilationsthätigkeit der Hefe von verschiedenen äusseren Einflüssen.

Von Prof. Dr. **Th. Bokorny** in München.

Die Assimilationsleistung der Pflanzen ist in ihren äußeren Bedingungen noch ziemlich wenig erforscht.

Unter den äußeren Bedingungen sind hier die Temperatur, der Wassergehalt des Substrates, fremde, nicht in den Stoffwechsel zu reißende chemische Substanzen (neutrale oder giftige) verstanden.

Bezüglich des Temperatureinflusses auf die Kohlensäureassimilation der grünen Pflanzen hebt Pfeffer in seiner Pflanzenphysiologie. 2. Auflage. Bd. I., p. 321 hervor, daß die meisten hierüber vorhandenen Untersuchungen kein verlässiges Bild über das Ausmaß der Assimilationsleistung geben, weil der gleichzeitige Verbrauch durch die Atmung nicht berücksichtigt ist, welch' letztere bis zum Tötungspunkt steigt. Nur die von Kreusler in den landwirtschaftlichen Jahrbüchern. 1887, 1888, 1890 publizierten Arbeiten ziehen auch die Atmung in Rechnung. Nimmt man den durch die Atmung wieder ausgeschiedenen Kohlenstoff hinzu, so zeigt sich, daß ein beblätterter Zweig von Rubus fruticosus in einer 0,3 Proz. Kohlensäure enthaltenen Luft bei elektrischem Lichte, das ungefähr mit hellem, diffusem Tageslicht gleich war, zwischen 15 und 25° am stärksten assimiliert, wie folgende Zeichnung angiebt:



Assimilations- und Atmungskurve für einen beblätterten Zweig von Rubus fruticosus nach Kreusler.

Während die Atmungskurve allmählich und ziemlich gleichmäßig ansteigt von 2,3 bis 46,4° C, zeigt die Assimilationskurve rasches Ansteigen bis 15,8°, dann geringe Senkung, hierauf Ansteigen zum Optimum bei 25°, das aber nicht viel über die Assimilationsgröße

bei 15,8° hinausgeht. Von 25° an sinkt die Assimilationsgröße stetig, von 41,7° bis 46,4° besonders rasch.

„Natürlich bietet die Kurve spezifische Verschiedenheiten, und es ist klar, daß Algen, die ihren ganzen Lebenslauf unter 0° abwickeln, auch bei dieser Temperatur gut assimilieren. Doch scheint allgemein der aktive Chlorophyllapparat beim Abkühlen auf 0° oder einige Grade unter 0 zunächst noch Kohlensäure zu zersetzen; Iumelle konnte sogar für einige Coniferen und Flechten eine schwache Kohlensäureassimilation bei 30—1,0° unter 0 nachweisen, während er keine Atmungsthätigkeit fand. Doch dürfte diese bei mäßigen Kältegraden länger anhalten als die Assimilation, die ohne Frage unter solchen Bedingungen, auch in den von Iumelle benutzten Pflanzen, mit der Zeit ausklingt.“

Um den Einfluß der Temperatur auf die Assimilationsthätigkeit der Hefe zu beobachten, wurden von mir folgende Versuche aufgestellt:

I.

Destilliertes Wasser	1 Liter
Rohrzucker	50 g, d. i. 5 Proz.
PO_4KH_2	1 „ „ 0,1 „
Bittersalz	1 „ „ 0,1 „
Ammonsulfat	5 „ „ 0,5 „
Hefe von 31 Proz. Tr.S.	1 „

Versuchszeit 2 Tage. — Temperatur 20° C.

II.

Destilliertes Wasser	1 Liter
Rohrzucker	50 g, d. i. 5 Proz.
PO_4KH_2	1 „ „ 0,1 „
Bittersalz	1 „ „ 0,1 „
Ammonsulfat	5 „ „ 0,5 „
Hefe von 31 Proz. Tr.S.	1 „

Versuchszeit 2 Tage. — Temperatur 5° C.

III.

Wasser	1 Liter
Rohrzucker	50 g, d. i. 5 Proz.
PO_4KH_2	1 „ „ 0,1 „
Bittersalz	1 „ „ 0,1 „
Ammonsulfat	5 „ „ 0,5 „
Hefe von 31 Proz. Tr.S.	1 „

Versuchszeit 2 Tage. — Temperatur 35°.

Die Trockensubstanzbestimmung an der erhaltenen gewaschenen und bis zur Gew. Konstanz getrockneten Hefe ergab bei I) eine Vermehrung von 0,31 auf 0,51 g, also um 64 Proz.; bei II) eine Verminderung von 0,31 auf 0,24 g, also um 22,6 Proz.; bei III) eine Vermehrung von 0,31 auf 0,42 g, also um 39 Proz.

Daraus folgt, daß mittlere Temperatur für die Assimilationsthätigkeit am günstigsten ist, 35° ist schon zu warm, 5° ist zu

kalt. Bei letzterer Temperatur scheint die Hefe gar nicht zu assimilieren, der Verlust ist wohl auf einen Verbrauch von Trockensubstanz durch die Atmungsthätigkeit zurückzuführen (Gärungsschwach).

Da die Nährflüssigkeiten I und II infolge der ziemlich großen Zuckermengen beständig während der 2 Tage in Gärung waren, so war die Sauerstoffatmung höchstens anfangs möglich, solange der Sauerstoff nicht ganz verdrängt war; später lieferte die Gärung allein die zur Assimilation und zu anderen Lebensvorgängen nötige Betriebsenergie; eine Veratmung von Hefetrockensubstanz konnte nicht mehr stattfinden.

Faktisch zeigen nun die wenigen angestellten Versuche eine gewisse Uebereinstimmung mit den von Kreusler bei grünen Pflanzen erhaltenen Resultaten. Die Temperatur 20° ist wesentlich günstiger als 35°.

5° C ist bei Hefe noch weit ungünstiger als bei Rubus fruticosus. Denn die Hefe zeigt bei dieser Temperatur gar keine Assimilation mehr, wenigstens nicht in dem angegebenen Nährsubstrat. Möglich daß Peptonnahrung statt Ammonsulfat noch eine schwache Trockensubstanzvermehrung hervorbringen würde.

Um den Verbrauch von Zellsubstanz (Trockensubstanz) durch Atmung auszuschließen, hat Verf. auch in allen folgenden Versuchen, wie schon oben, Hefe angewandt, der reichliche Zuckermengen zur Vergärung dargeboten waren. So konnten alle Assimilationsprodukte für die lebende Zelle selbst erhalten bleiben.

Hinsichtlich des Wassergehaltes des Substrates und seiner Wirkung auf die assimilierende Zelle schreibt Pfeffer (a. a. O. Bd. I. p. 322), daß wohl in manchen Pflanzen durch fortdauernde Plasmolyse eine Inaktivierung der Chloraplasten bewirkt werde und vielleicht deswegen bei einigen Studien (Meissner, Weyl) in den plasmolysierten Pflanzen Assimilationsthätigkeit vermißt wird.

Verfasser selbst hat einige Versuche mit Hefe angestellt, wodurch die Schädlichkeit zu hoher Konzentration für die Assimilationsthätigkeit an einem der besten Nährstoffe, nämlich Zucker (und Pepton), dargethan wird. Die Assimilationsgröße wurde an der Trockensubstanzvermehrung erkannt.

Da die Versuche so angestellt wurden, daß eine normale, d. i. Sauerstoffatmung nicht stattfinden konnte und der Gärungsvorgang die nötige Energie für die Assimilationsleistung liefern mußte, so ist es natürlich von Wichtigkeit, daß nicht auch dieser durch die gebotenen Bedingungen gestört wurde. Wie wir sehen werden, hat die hohe Konzentration (20 Proz. Zucker) jene Gärthätigkeit in gewiß ausreichendem Maße gestattet.

Es wurden zugleich bei mehreren Versuchen einige für die Ernährung nötige fremde Stoffe in ganz geringer Menge zugesetzt, um durch den Vergleich mit dem Normalversuch zu sehen, ob durch dieselben etwas an der Assimilationsthätigkeit geändert werde.

Zu jedem Versuch wurde 1 g frische Preßhefe verwendet, deren Trockensubstanz durch ein Paar Bestimmungen zu 33 Proz. gefunden wurde.

Die Versuchszeit war 48 Stunden, innerhalb welcher ausgiebige Gärung und Assimilation eintreten konnte.

Die Temperatur betrug 25°; bei derselben ernährt und vermehrt sich die Hefe sonst vorzüglich.

Versuch A.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	20	„	also 20 Proz.
Pepton (Fleisch-)	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat (Bittersalz)	0,1	„	
Preßhefe	1	„	

Versuch B.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	5	„	also nur 5 Proz.
Pepton (Fleisch-)	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat (Bittersalz)	0,1	„	
Preßhefe	1	„	

Versuch C.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	20	„	d. i. 20 Proz.
Pepton (Fleisch-)	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat	0,2	„	
freie Schwefelsäure	0,01	„	
Preßhefe	1	„	

Versuch D.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	20	„	d. i. 20 Proz.
Pepton aus Fleisch	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat	0,1	„	
Freie Phosphorsäure	0,01	„	d. i. 0,01 Proz.
Preßhefe	1	„	

Versuch E.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	20	„	d. i. 20 Proz.
Pepton aus Fleisch	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat	0,1	„	
Freie Flußsäure	0,01	„	d. i. 0,01 Proz.
Preßhefe	1	„	

Versuch F.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	20	„	d. i. 20 Proz.
Pepton aus Fleich	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat	0,1	„	
Freie Milchsäure	0,02	„	d. i. 0,02 Proz.
Preßhefe	1	„	

Versuch G.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	20	„	d. i. 20 Proz.
Pepton aus Fleisch	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat	0,1	„	
Formaldehyd	0,1	„	d. i. 0,1 Proz.
Preßhefe	1	„	

Versuch H.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	20	„	d. i. 20 Proz.
Pepton aus Fleisch	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat	0,1	„	
Formaldehyd	0,01	„	d. i. 0,01 Proz.
Preßhefe	1	„	

Versuch I.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	20	„	d. i. 20 Proz.
Pepton aus Fleisch	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat	0,1	„	
Caffein	0,1	„	d. i. 0,1 Proz.
Preßhefe	1	„	

Versuch K.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	20	„	d. i. 20 Proz.
Pepton aus Fleisch	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat	0,1	„	
Chlornatrium	0,1	„	
Preßhefe	1	„	

Versuch L.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	20	„	d. i. 20 Proz.
Pepton aus Fleisch	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Magnesiumsulfat	0,1	„	

Calciumchlorid	0,1 g	d. i. 0,1 Proz.
Preßhefe	1 „	

Bei allen Versuchen wurde nach 2tägiger Versuchsdauer die entstandene Hefe auf einem Filter gesammelt und ausgewaschen, dann bis zur Gewichtskonstanz getrocknet bei 100°.

Die Trockensubstanz-Bestimmung ergab bei Versuch

A) 0,40 g nach 48-st. Ernährung
B) 0,65 „ „ „ „
C) 0,49 „ „ „ „
D) 0,45 „ „ „ „
E) 0,15 „ „ „ „
F) 0,25 „ „ „ „
G) 0,18 „ „ „ „
H) 0,30 „ „ „ „
I) 0,12 „ „ „ „
K) 0,30 „ „ „ „
L) 0,32 „ „ „ „

Die Trockensubstanz der angewandten Hefe betrug 0,33 g.

Es hatte also in wenigen Fällen eine nennenswerte Trockensubstanzvermehrung stattgefunden. Bei Versuch B), wo die Gesamtkonzentration nur 5,8 Proz. betrug, hat sich die Trockensubstanz von 0,33 auf 0,65 g vermehrt (binnen 2 Tagen); sonst war eine Zunahme bei A) von 0,33 auf 0,40, C) von 0,33 auf 0,49, D) von 0,33 auf 0,45 zu bemerken. Außerdem überall Abnahme der Trockensubstanz oder kaum Gleichbleiben. Am stärksten sank die Trockensubstanz bei Versuch E), wo freie Flußsäure in ganz geringer Menge (0,01 Proz.) zugesetzt war, und im Versuch I) mit 0,1 Proz. Caffein-Zusatz.

Daß mangelnde Gärthätigkeit an dem ungünstigen Resultat schuld sei, kann nicht angenommen werden, denn fast überall trat kräftige Gärung ein und gerade bei dem Caffeinversuch mit dem allerschwächsten Ausfall der Trockensubstanzbestimmung war der Gärungsverlauf ein sehr schöner; sehr bald trat lebhafte Gärung ein, die während der ganzen Versuchsdauer anhielt und nach 48 Stunden noch in lebhaftem Gange war. In dem Formaldehydversuch G), der nur 0,18 g Tr.S. lieferte, hörte die Gärung etwas früher auf, wie bei den anderen Versuchen, war aber während des ersten Tages kräftig. In dem Flußsäureversuch E) war die Gärung auch ziemlich erheblich, wenn auch schwächer als bei den übrigen.

Es bleibt also nur übrig, die hohe Konzentration und in einigen Fällen die Giftigkeit der zugesetzten fremden Substanz [Caffein 0,1 Proz. bei I), Flußsäure 0,01 Proz. bei E), Formaldehyd 0,1 Proz. bei G)] als die Ursache des Assimilationsmangels anzusehen. Starben die Hefenzellen bald ab, wie es bei Einwirkung letztgenannter Substanzen der Fall war, so mußte natürlich durch Austritt von Trockensubstanz aus den nun durchlässig gewordenen Zellen eine Verminderung des Trockengewichtes zustande komme, die selbstverständlich um so bedeutender war, je früher der Tod der Hefe eintrat.

Die Versuche ohne Zusatz giftiger Stoffe, wie Versuch A, K und L, zeigten keine oder nur eine ziemlich geringe Zunahme der Trockensubstanz. A hatte keinen besonderen Zusatz, K einen Zusatz von 0,1 Proz. Chlornatrium, L einen solchen von 0,1 Proz. Chlorcalcium erhalten. Da bei A die Trockensubstanz wenigstens von 0,33 auf 0,40 stieg, während sie bei K und L von 0,33 zurückging auf 0,30 bezw. 0,32 g, so weist der Zusatz dieser Chloride keinerlei Vorteil, eher einen kleinen Nachteil auf.

Formaldehydzusatz (Versuch G und H) tötet bei 0,1 Proz.; bringt aber keinen sehr erheblichen Schaden bei 0,01 Proz. hervor. Die Hefezelle hält sich fast auf derselben Trockensubstanz, welche ursprünglich vorhanden war, wenn 0,01 Proz. Formaldehyd zur Nährlösung zugesetzt wird. Eine Assimilation tritt freilich nicht ein.

Vorteilhaft zeigt sich ein Zusatz von 0,01 Proz. freier Phosphorsäure, da hier die Trockensubstanz von 0,33 auf 0,45 steigt, also höher, wie bei einem sonst gleichen Versuch ohne freie Phosphorsäure.

Ebenso wirkt 0,01 Proz. Schwefelsäure günstig.

Wir werden später sehen, daß diese Säuren bei 10-fach stärkerer Konzentration einen entschieden nachteiligen Einfluß üben. Jene günstige Wirkung sehr geringer Säuremengen ist wohl als eine Art Reizwirkung aufzufassen.

Bezüglich der Konzentration der Nährlösung geht aus den oben aufgeführten Versuchen hervor, daß 20 Proz. zu konzentriert ist; das Assimilationsplasma arbeitet bei solcher Konzentration der Nährlösung nicht so energisch, wie bei etwa 5 Proz.

Darum wurde bei den folgenden Versuchen immer eine geringere Konzentration des Nähr- und Gärsubstrates gewählt.

Im Folgenden soll zunächst der Einfluß einiger freien Säuren auf die Assimilationsthätigkeit der Hefe durch Versuche erläutert werden. Denn die Säuren sind bei der Praxis der Gärungsindustrie nicht ausgeschlossen.

Bemerkt sei zunächst im allgemeinen, daß freie Säure sich sonst immer als lebensfeindlich erwiesen hat. So tötet schon 0,02 Proz. freie Schwefelsäure die Algen und Infusorien binnen 24 Stunden ab, ebenso 0,02 Proz. freie Salzsäure.

Auch organische Säuren sind lebensfeindlich; denn in 0,05 Proz. Apfel- oder Weinsäure sterben Sphaeroplea und Spiroyra binnen 24 Stunden ab.

Auch die Kohlensäure wird demnach schädlich wirken, die bei der Gärung selbst sich bildet, natürlich nach Maßgabe ihrer geringen Acidität und Löslichkeit.

Versuch 1.

Wasser (destilliertes)	100	g
Rohrzucker	5	"
Fleischpepton	0,5	"
Monokaliphosphat	0,2	"
Bittersalz	0,1	"
Freie Phosphorsäure (H_4PO_3)	0,1	"
Hefe von 30 Proz. Trockensubstanz	1	"

Nach 48-stündigem Stehen bei 20—25° hatte sich die Flüssigkeit geklärt (nach nur 24 Stunden noch nicht); starker Bodensatz war entstanden; Gärung war nicht mehr sichtbar, der Geschmack der Flüssigkeit kaum mehr süß. Unter dem Mikroskop erwies sich der Niederschlag als reine, kräftig sprossende, bakterienfreie Bierhefe, welche zu großen Sproßverbänden vereinigt war. Nun wurde filtriert, gewaschen, getrocknet.

Die Trockensubstanz-Bestimmung des gewaschenen und vorsichtig bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Niederschlages ergab 0,48 g. Es war also eine Vermehrung der Trockensubstanz von 0,30 auf 0,48, d. i. von 60 Proz., eingetreten.

Da bei einem Kontrollversuch ohne Säurezusatz die Trockensubstanz von 0,30 auf 0,60 g vermehrt wurde, so zeigt sich hier deutlich ein hemmender Einfluß der Säure trotz der großen Verdünnung. Immerhin aber blieb die Hefe gesund und sproßte weiter, als die filtrierte Flüssigkeit mit einer Spur jener Hefe versetzt und noch einige Tage stehen gelassen wurde. Allmählich kam neben S. cerevisiae eine langestreckte Hefenart (S. mycoderma, auf.

Versuch 2.

Aqua destillata	100	g
Rohrzucker	5	„
Fleischpepton	0,5	„
Monokaliphosphat	0,2	„
Bittersalz	0,1	„
Freie Phosphorsäure (H_3PO_4)	0,25	„
Hefe von 30 Proz. Trockensubstanz	1	„

Nach 48 Stunden war die Flüssigkeit klar (nach 24 noch nicht); Geschmack kaum mehr süß, Gärung nicht mehr im Gange. Unter dem Mikroskop zeigte sich bakterienfreie sprossende Hefe, welche aber keine größeren Sproßverbände bildete.

Makroskopisch stellte sich die Hefe teils als Bodensatz, teils als Haut auf der Flüssigkeit, die einen angenehmen Gärungsgeruch aufwies, dar. Keine Bakterien waren vorhanden, kein S. mycoderma war gewachsen; die Hefe erwies sich als rein.

Die Trockensubstanz der gewachsenen Hefe betrug 0,39 g. Also war gegenüber der ursprünglichen Hefe eine Trockensubstanzvermehrung von 0,30 auf 0,39, d. i. um 30 Proz., eingetreten.

0,25 Proz. bewirkt also eine noch wesentlich stärkere Hemmung der Assimilation als 0,1 Proz.

Versuch 3.

Destilliertes Wasser	100	g
Rohrzucker	5	„
Fleischpepton	0,5	„
Monokaliphosphat	0,2	„
Bittersalz	0,1	„
Freie Phosphorsäure (H_3PO_4)	0,5	„
Hefe von 30,0 Proz. Trockensubstanz	1	„

(Fortsetzung folgt.)

Kleinere Mitteilungen über Nitrifikationsmikroben.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. S. Winogradsky im Kaiserl. Institut für experimentelle Medizin in St. Petersburg.]

Von **W. Omelianski.**

II.

Wird schweflige und phosphorige Säure durch Nitrobacter oxydiert?

Die Feststellung genauer Grenzen der Reaktionsfähigkeit der Mikroben, insbesondere solcher, die eine so hervorragende Stellung unter den übrigen Agentien des Erdbodenstoffwechsels einnehmen, wie die Gruppe der Nitrifikationsmikroben, kann nicht bei der Erforschung derselben umgegangen werden. In einer unserer früheren Mitteilungen[1]) haben wir bereits Nitrosomonas in dieser Hinsicht einer Untersuchung unterworfen und festgestellt, daß ihre Wirkung auf die Oxydation von Ammoniakstickstoff streng beschränkt ist. Selbst Verbindungen, die dem Ammoniak chemisch so nahe stehen, wie die Amine, insbesondere die primären, vermögen das Ammoniak nicht zu ersetzen; dieselben werden von den Mikroben nicht oxydiert und sind daher zur Erhaltung der Lebensthätigkeit derselben untauglich.

Es schien uns interessant, auch den Nitratbildner in dieser Hinsicht zu prüfen. Die Frage, ob seine Thätigkeit sich auf die Oxydation der salpetrigen Säure zu Salpetersäure beschränkt, oder sich auch auf andere unvollständig oxydierte mineralische Salze erstreckt, drängte sich von selbst auf und war gewiß einer Untersuchung wert. Wir wählten zu diesen Versuchen die Natronsalze der schwefligen und der phosphorigen Säure.

Wie die Untersuchungen von Prof. Winogradsky ergeben haben, wachsen die Nitrifikationsmikroben am besten auf rein mineralischem Nährboden, welcher die gewöhnlichen Nährsalze, kohlensaures Alkali oder Erdalkali enthält, aber die Hauptbedingung für ihr Wachstum ist die Anwesenheit von Ammoniak für den Nitritbildner und von Nitrit für den Nitratbildner. Das Leben dieser Mikroben ist mit der Oxydation der genannten Körper eng verknüpft und bei Abwesenheit der letzteren läßt sich keine Spur von Wachstum wahrnehmen. Daher kann auch bei der Prüfung neuer oxydierbarer Stoffe die bloße Thatsache des Wachstumes der Nitrifikationsmikroben als sicheres Kennzeichen dienen, daß dieselben imstande sind, den zu untersuchenden Körper zu oxydieren und auf Kosten der dabei freiwerdenden Energie zu leben. Da es nun weiter bekannt ist, daß der Nitratbildner vorzüglich auf Nitrit-

1) Omelianski, W., Ueber die Nitrifikation des organischen Stickstoffes. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. V. 1899. No. 13.)

agar gedeiht, so könnte man sich mit einer ganz einfachen Versuchsanordnung begnügen.

Wir bereiteten Agargallerte, welche das zu prüfende Salz (0,2 Proz.), sowie als Stickstoffquelle Spuren von KNO_2, KNO_3 und Pepton enthielt. Zur Kontrolle dienten drei Proben der gleichen Gallerte, welche jedoch das zu prüfende Salz nicht enthielten. Das positive oder negative Resultat des Versuches wurde durch Vorhandensein oder Abwesenheit von Wachstum auf der schiefen Agarfläche bestimmt.

1. Versuch mit schwefligsaurem Natron.

Es wurden 6 Proben von Agargallerte von folgender Zusammensetzung angefertigt:

Na_2CO_3 = 0,1 Proz.	a) Na_2SO_3 = 0,2 Proz.	1) KNO_2 = 0,03 Proz.
K_2HPO_4 = Spuren		2) KNO_3 = 0,03 „
Agaragar = 1,5 Proz.		3) Pepton = 0,03 „
Leitungswasser = 1000 „	b) ohne Zus. v. Na_2SO_3	4) KNO_2 = 0,03 „
		5) KNO_3 = 0,03 „
		6) Pepton = 0,03 „

Am 13. September 1901 wurden mit einer Kultur des Nitratbildners (Aufschwemmung von 3 Strichen einer Agarkultur in 10 ccm Wasser) in gleicher Weise je 2 Röhrchen mit schräg erstarrtem Agar von jeder der genannten 6 Muster oberflächlich geimpft. Die Röhrchen wurden im Thermostaten bei 35° $3^1/_2$ Wochen lang gehalten. Am 7. Oktober unterbrachen wir den Versuch. Es erwies sich, daß nur in den Röhrchen, denen Kalinitrit zugesetzt war (Proben 1 und 4), Wachstum eingetreten war, und zwar ein gleich gutes in beiden verschiedenen Reihen. Der letztere Umstand läßt erkennen, daß das zum Versuche genommene Natriumsulfit keinerlei schädigende Wirkung auf den Mikroorganismus ausgeübt hatte, doch erwies sich dieses Salz zugleich als Material zur Oxydation als für denselben gänzlich unbrauchbar. In den Proben mit Kalinitrat und Pepton wurde überhaupt kein Wachstum wahrgenommen.

2. Versuch mit phosphorigsaurem Natron.

Die Anordnung des Versuches und die Zusammensetzung der 6 Gallerteproben waren genau dieselben wie im vorigen Versuche, mit dem einzigen Unterschiede, daß anstatt 0,2 Proz. Natriumsulfit hier 0,2 Proz. Natriumphosphit in Anwendung kam. Die Impfung aller 12 Röhrchen erfolgte am 20. September 1901. Die Gläser wurden bis zum 7. Oktober, d. h. $2^1/_2$ Wochen, im Brutschranke bei 35° gehalten. Das erhaltene Resultat war dem des vorigen Versuches vollkommen gleich, d. h. ein Wachstum wurde nur auf denjenigen Gallerteproben wahrgenommen, welche Kalinitrit enthielten, und war auch hier in den beiden Reihen ein gleich gutes, in allen übrigen war dagegen keine Spur von Entwickelung zu bemerken.

Wir gelangen demnach auf Grund dieser Versuche, sowie der schon früher für Nitrosomonas erhaltenen Resultate zu dem

Schlusse, daß die Reaktionsfähigkeit der Nitrifikationsmikroben sich strikt auf die Oxydation von Ammoniak zu salpetriger Säure einerseits (Nitrosomonas) und von salpetriger Säure zu Salpetersäure andererseits (Nitrobacter) beschränkt und sich nicht auf andere unvollkommen oxydierte mineralische Verbindungen erstreckt.

Referate.

Jwanoff, Ueber die Zusammensetzung der Eiweißstoffe und Zellmembranen bei Bakterien und Pilzen. [Aus dem pharmakol. Laborat. der militärmediz. Akademie zu Petersburg.] (Hofmeister's Beiträge zur chemisch. Physiologie und Pathologie. Bd. I. 1902. Heft 10—12. p. 524—537.)

Jwanoff stellte in einer Reihe von Pilzen und Bakterien die Anwesenheit von Nukleoproteïden fest. In den Zellmembranen wurde Chitin nachgewiesen. Dieses Chitin scheint dem tierischen ähnlich zu sein, aus ihm konnte Chitosamin isoliert werden.

Martin Jacoby (Heidelberg).

Brandt, K., Ueber den Stoffwechsel im Meere. 2. Abhandlung. (Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen, herausgegeben von der Kommission zur Untersuchung der deutschen Meere in Kiel und der Biologischen Anstalt auf Helgoland. Abteilung Kiel. Neue Folge. Bd. VI. p. 23—79. Kiel 1902.)

Verf. hat in einer früheren Abhandlung (1899) die interessante Theorie aufgestellt, dass der Reichtum der verschiedenen Meeresgebiete an Organismen nach Liebig's Minimumgesetz von der Quantität der gelösten Stickstoffverbindungen abhängig sei. Diese Verbindungen werden zwar immer vom Lande aus in beträchtlichen Quantitäten in das Meer herausgeführt werden, aber wahrscheinlich von den Meeresbakterien umgesetzt, so daß schließlich wieder freier Stickstoff entsteht.

Diese Theorie begründet Verf. in der vorliegenden Abhandlung ausführlich; neue, von Baur auf Veranlassung des Verf.'s ausgeführte Untersuchungen über nitrifizierende und denitrifizierende Bakterien im Meere, werden mitgeteilt und diskutiert, und zuletzt spricht Verf. darüber, wie die Theorie näher geprüft werden kann.

Während die Landvegetation in den tropischen Gebieten, wenigstens überall, wo die Feuchtigkeit genügend ist, außerordentlich viel reicher ist, als in den temperierten und arktischen Ländern, besteht im Meere kein solcher Unterschied. Zwar findet sich in den wärmeren Meeren eine viel größere Anzahl von Arten

als in den kälteren; der Reichtum an Individuen ist aber nicht wesentlich größer, insoweit bis jetzt vergleichbare Beobachtungen vorhanden sind. Die größten Fischereien finden nicht in den Tropen statt, sondern in den kälteren Meeren, besonders in den Gebieten, wo temperierte Strömungen sich mit den eiskalten Wassermengen der Polarmeere begegnen. Da findet sich auch die größte Menge von Seevögeln und größeren Seetieren (Seehunden, Walen), und die größten Meeresalgen gehören nicht den Tropen, sondern den südlichen (Macrocystis) und nördlichen (Laminarien) Meeren an. Für die Verteilung der kleineren Planktonorganismen gilt dasselbe Gesetz; die verschiedenen Expeditionen, die die Polarmeere besuchten, sprechen einstimmig über den großen Planktonreichtum (besonders an Diatomeen) der kälteren Meeresgebiete im Gegensatz zu den wärmeren. So groß ist der Unterschied doch nicht, wie er diesen Forschungsreisenden vorgekommen ist; sie haben ihre Untersuchungen während des Sommers gemacht, zu welcher Zeit das arktische und subarktische (bez. antarktische) Plankton ein überaus reiches, aber kurzes Aufblühen hat. Den langen Winter hindurch sind die Polarmeere sehr arm an Planktonorganismen; für die Vergleichung ist es also notwendig, zusammenhängende Beobachtungen durch ein ganzes Jahr zu haben. Solche Beobachtungsreihen sind aber schon von verschiedenen Küstengebieten vorhanden; die Proben sind mit Hensen's quantitativem Vertikalnetz geschöpft und die Quantität durch Volummessung bestimmt. Verf. stellt Beobachtungsreihen zusammen von 1) Karajak in Nordwest-Grönland (Vanhöffen), 2) Kieler Bucht (Verf. und Apstein), 3) Neapel (Schütt und Apstein), 4) Straße von Messina (Lohmann), 5) Syrakus (Lohmann), 6) Ralum in Neupommern (Dahl); aus der Zusammenstellung geht hervor, dass die Karajakfjord wenigstens ebenso reich ist als die temperierten Gebiete und entschieden reicher als die tropischen.

Nach der Theorie des Verf.'s ist der relative Reichtum der kühleren Meere dadurch bedingt, daß die Stickstoffverbindungen bei hoher Temperatur schnell von Bakterien gestört werden, während sie in den kälteren Meeren besser von den kohlensäureassimilierenden Organismen ausgenutzt werden können (Diatomeen, Peridineen, Flagellaten). Die organischen Stickstoffverbindungen sollten dann von den Bakterien zuerst bis zu Ammoniak gespalten werden, dann nitrifiziert und endlich durch denitrifizierende Arten als freier Stickstoff entbunden werden. Diese Theorie wird durch die folgenden Thatsachen gestützt:

1) Nitrite sind an verschiedenen Stellen im Meere unter anderem durch Natterer's Untersuchungen nachgewiesen.

2) Es ist dem Verf. gelungen, in Kulturen, die mit Bodenschlamm aus der Ostsee infiziert waren, Nitrifikation zu bekommen. Die Bakterien sind noch nicht reingezüchtet; sie können auch ohne Kochsalz leben; ebenso wie auch Nitrifikationsbakterien aus dem Lande mit dem Salzgehalt der Ostsee gut wachsen können. Darum hält Verf. es für möglich, daß die nitrifizierenden Bakterien der Ostsee identisch

sein können mit den von Winogradsky in der Ackererde gefundenen.

3) Baur hat zwei Arten von denitrifizierenden Bakterien aus der Ostsee isoliert und gefunden, daß solche Bakterien in der Ostsee regelmäßig vorkommen.

4) Die bis jetzt gefundenen Arten von denitrifizierenden Bakterien haben ein ziemlich hohes Temperaturoptimum; bei 25° geht die Denitrifikation viel (2—4mal) schneller als bei 15° vor sich, während sie bei 4—5° nur sehr langsam wachsen, bei 0° gar nicht.

Von anderen Nährstoffen, die möglich im Meere in minimalen Quantitäten vorhanden sein können, bespricht Verf. die Phosphorsäure und Kieselsäure, kommt aber zu dem Resultat, daß wenn auch diese Stoffe von Bedeutung sein können, es doch wahrscheinlich ist, daß der Gehalt an Stickstoffverbindungen entscheidend sein wird.

Damit diese außerordentlich interessante Theorie weiter geprüft werden kann, müssen folgende Untersuchungen gemacht werden: 1) Weitere Untersuchungen über die Biologie der Planktonorganismen, 2) Studien über die Verbreitung der gelösten Stickstoffverbindungen im Meere, 3) Untersuchungen über die Lebensbedingungen und die Verbreitung der marinen „Stickstoffbakterien“. Um die letzteren aufzufinden, empfiehlt Verf. folgende Nährlösungen:

1) Für denitrifizierende Arten (Baur's Lösung): 1 kg frische Mießmuscheln werden in 1—2 l Seewasser gekocht und dem Filtrat 2 Proz. Pepton und 0,25 Proz. Calciumnitrit zugesetzt.

2) Für nitrifizierende Bakterien: Seewasser 500, destilliertes Wasser 500, Kaliumphosphat 1, Magnesiumphosphat 0,5, Chlorcalcium Spur. Diese Lösung wird in Kölbchen zu je 20 ccm gefüllt und sterilisiert. Nach dem Erkalten werden jedem Kölbchen 2 ccm steriler 2-proz. Lösung von Ammoniumsulfat zugesetzt sowie 2—3 ccm einer milchigen sterilisierten Aufschwemmung von Magnesiumkarbonat in Wasser. Gran (Bergen).

Kulescha, G., Untersuchungen über die Bakterienflora der Heringslake. (Bericht des landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratoriums am Ministerium der Agrikultur zu St. Petersburg. 1899.)

Die Arbeit Kulescha's ist besonders von dem Standpunkt aus interessant, als sie die erste bakteriologische Untersuchung russischer gesalzener Heringe giebt und auf Grund der vorgefundenen Bakterienflora den Beweis liefert, daß dieses Produkt noch weit hinter den ausländischen Produkten steht. Das Material zu den genannten Untersuchungen gab die reiche Firma Ssaposchnikoff in Astrachan. Nachdem der Verf. in seinem Bericht darauf hingewiesen, daß die bakteriologischen Untersuchungen der Heringslake sich noch im ersten Entwickelungsstadium befinden, und kurz die Resultate der Wehmer'schen Untersuchungen berührt hat, giebt er eine Beschreibung der von

ihm isolierten Mikroben, von denen sich einige fast stets in sämtlichen untersuchten Proben vorfanden und gewiß eine Rolle bei der Reifung der Heringslake spielen dürften. Von den isolierten Mikroben waren besonders 10 Formen sehr verbreitet. Was die Beschreibung derselben anbetrifft, so muß auf das Original verwiesen werden. Vier der beschriebenen Arten, die der Verf. mit Bacillus No. 1, No. 2 und No. 4 und Micrococcus No. 9 bezeichnet, fanden sich in allen Gelatineplatten vor, die anderen 6 mehr oder weniger oft. Diese Mikroben, mit Ausnahme des Bacillus No. 4, der zur Gruppe der Fäulnisbakterien zu gehören scheint, hält der Verf. für gewöhnliche Bewohner der russischen Heringslake. Alle beschriebenen Mikroben, mit Ausnahme des Bac. No. 4, besaßen die Fähigkeit, sich in Nährsubstraten zu entwickeln, die bis zu 20 Proz. Kochsalz enthielten. Außer Mikrokokken und Bacillen fand Verf. nicht selten Hefearten, besonders Saccharomyces cerevisiae und Rosahefe, sowie Schimmelpilze. Diese Mikroorganismen sind jedoch nur als zufällige Verunreinigungen anzusehen. Unzweifelhaft stellt die Bakterienflora der Heringslake den Faktor dar, der die typischen chemischen Veränderungen in derselben verursacht. Der langsame Verlauf dieser Veränderungen ist dem schädlichen Einfluß des Salzes auf die Lebensfähigkeit der Bakterien zuzuschreiben.

Sonderbarerweise erstreckt sich die Entwickelung der Bakterien nicht auf das Fleisch der Heringe, welches vollkommen steril bleibt und nur rein chemischen Veränderungen unterworfen wird.

Auf Grund seiner Untersuchungen hält sich Verf. nicht für berechtigt, Schlüsse zu ziehen über die Rolle, die den einzelnen isolierten Mikroben zukommt, da zur Untersuchung ein bereits reifes Produkt vorlag. Der Umstand aber, daß einige von den isolierten Bakterien auf Nährboden einen unangenehmen Geruch verbreiteten, läßt annehmen, daß die Lebensprodukte dieser Mikroben den Fisch verschlechtern, so daß der Reichtum und die Vielartigkeit der Bakterienflora der Astrachan'schen Heringe als eine durchaus nicht wünschenswerte Erscheinung anzusehen ist, auf die man Acht geben muß.

Die Hauptresultate der Untersuchungen sind demnach folgende:

1) Die russische Heringslake enthält eine sehr reichhaltige Bakterienflora, viel reichhaltiger als die von Wehmer untersuchte Emdener Heringslake, was jedoch nicht zur Verbesserung, sondern eher zur Verschlechterung des genannten Produktes beiträgt.

2) Das Fleisch der Heringe ist vollkommen steril und enthält weder aërobe noch anaërobe Mikroben.

Grimm (Petersburg).

Barker, Sexual spore formation among the Saccharomycetes. (Ann. of Bot. 1901. Vol. XV. p. 759.)

Verf. rekapituliert seine Angaben und die Mitteilungen anderer Autoren über die Sexualität der Saccharomyceten. — Bei den

verschiedenen Hefen kommt diese in verschiedenem Maße zum Ausdruck. Bei Zygosaccharomyces kopulieren zwei Zellen miteinander, die nach der Befruchtung ihre Individualität beibehalten. Aehnlich verhält sich Saccharomyces Pombe. Bei S. octosporus kopulieren zwei Zellen, die durch Teilung aus der nämlichen Mutterzelle entstanden sind, meist vollständig miteinander und geben dabei ihre eigene Individualität völlig auf. In anderen Fällen wird die Sporenbildung ohne vorherige Teilung der ursprünglichen Mutterzelle erreicht. Dabei geht der Sporenbildung Kernteilung und Kernverschmelzung voraus, oder es sind auch diese Prozesse in Wegfall gekommen. In letztem Fall ist dann jede Andeutung sexueller Thätigkeit verschwunden. Küster (Halle a. S.)

Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. VI. Nachtrag. [Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.] (Zeitschr. ges. Brauerw. Bd. XXV. 1902. p. 49 u. 50.)

Bei der wiederholten Untersuchung der Holzkohlekonserve No. 10 und der Asbestkonserve [1]) nach 15 Jahren und 2 Monaten entwickelten sich noch immer Hefezellen, und zwar solche von wilden Arten. Bei der Holzkohlekonserve machte sich eine weitere Abnahme der lebens- und entwickelungsfähigen Zellen deutlich geltend. Die aus der Asbestkonserve entwickelte wilde Hefe gehörte der gleichen großzelligen Art an, welche schon bei der Untersuchung im Jahre 1900 den wesentlichsten Bestandteil der Hefeabsätze bildete.

Die Lebensdauer von wilder Hefe in trockenem Zustand ist also bei Ausschluß der dieselbe beeinträchtigenden Faktoren, wie höhere Temperatur, Zutritt der Luft, zu hoher Wassergehalt und Belichtung, eine sehr lange. Wenn nun auch unter natürlichen Verhältnissen nur in den seltensten Fällen alle die Lebensdauer solcher Hefezellen begünstigenden Einflüsse gleichzeitig vereinigt sein dürften, so führen doch diese Untersuchungsresultate die große Infektionsgefahr durch wilde Hefe für den Brauereibetrieb wieder deutlich vor Augen. H. Will (München).

Grimm, M., Morphologisch-physiologische Untersuchungen über verschiedene Oidium lactis-Arten. (Bericht des landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratoriums am Ministerium der Agrikultur zu St. Petersburg. 1900. p. 18.)

Oidium lactis spielt, wie bekannt, eine nicht unbedeutende Rolle bei der Reifung der Weichkäse, die oft auf der ganzen Peripherie von den Wucherungen dieses Pilzes bedeckt sind und zum großen Teil ihr spezifisches Aroma seiner chemischen Zersetzungsarbeit verdanken. Von der morphologischen und physiologischen Seite ist diese Form, trotz des großen praktischen Interesses noch

1) Vergl. dieses Centralbl. II. Abt. Bd. III. 1897. p. 17; Bd. IV. 1898. p. 485; Bd. V. 1899. p. 527; Bd. VI. 1900. p. 226; Bd. VII. 1901. p. 438.

sehr wenig untersucht. Außer einer genauen Beschreibung des Pilzes durch Freudenreich und Lang sind in der Litteratur nur kurze Hinweise auf die eine oder andere physiologische Eigenschaft zu finden. Verf. machte sich eine vergleichende Untersuchung der verschiedenen Varietäten dieser Pilzform zur Aufgabe, die von ihm aus saurer Milch, aus verschiedenen Proben stark gesäuerten Rahmes, aus Paracaseïn, sowie von der Oberfläche des Limburger- und Brie-Käses isoliert worden waren. Die gefundenen Pilzformen konnten in 4 Gruppen untergebracht werden:

1) Das gewöhnliche Oidium lactis, eine Form die stets auf saurer Milch zu finden ist, und von Brefeld sowie Freudenreich und Lang genau beschrieben worden ist.

2) Oidium lactis α — vom Verf. aus Paracaseïn isoliert.

3) Oidium lactis β — gleichfalls vom Verf. isoliert und zwar sowohl aus Paracaseïn als auch von der Oberfläche des Brie-Käses. Die beiden letzteren Formen unterscheiden sich von der ersten sowohl durch ihre charakteristischen Kolonieen auf Gelatineplatten als auch durch ihr viel bedeutenderes Peptonisationsvermögen.

4) Oidium lactis cerebriforme — eine sehr charakteristische Form, vom Verf. so genannt nach dem typischen Wachstum auf Kartoffeln.

Außer diesen 4 Formen wurden 3 von Weigmann seiner Zeit isolierte Oidium-Arten zum Vergleich herangezogen und zwar Oidium lactis d, Oidium lactis H_6 und Oidium lactis fadenziehendes. Was nun diese Formen anbetrifft, so dürfte Oidium lactis d mit dem vom Verf. isolierten Oidium lactis α identisch sein. Das fadenziehende Oidium lactis jedoch kann nach Meinung des Verf.'s überhaupt nicht als Oidium angesehen werden, sondern stellt eine Torula vor.

Der Unterschied zwischen den verschiedenen angeführten Formen besteht nicht nur im Charakter der Kolonieen auf Gelatineplatten, sondern auch in verschiedenen morphologischen und physiologischen Eigenschaften: so in der Form und Größe der Conidien, in der Dicke des Myceliums, im Verhalten zu verschiedenen Nährsubstraten, in der Bildung von peptonisierenden Fermenten etc. Am charakteristischsten treten die Verschiedenheiten beim Wachstum auf Kartoffeln sowie sterilisiertem Caseïn hervor.

Autorreferat.

Papasotiriu, J., Untersuchungen über das Vorkommen des Bacterium coli in Teig, Mehl und Getreide, nebst einigen Bemerkungen über die Bedeutung des Bacterium coli als Indikator für Verunreinigung von Wasser mit Fäkalien. (Archiv für Hygiene. Bd. XLI. 1902. p. 204.)

Wolffin fand seiner Zeit bei der bakteriologischen Untersuchung der Sauerteiggärung als ausreichende Erklärung derselben ein dem Bacterium coli sehr nahestehendes Stäbchen, welches

vorläufig Bacterium levans genannt wurde. Ferner wurde durch diese Untersuchungen B. coli als ein in der Umgebung der Menschen weit verbreiteter Organismus nachgewiesen und die Bedeutung desselben z. B. als Indikator für Verunreinigung des Wassers durch Fäkalien sehr erschüttert. Die von Wolffin begonnenen Untersuchungen wurden von Fränkel fortgesetzt und letztere Untersuchungen wurden vom Verf. verifizert, um die wichtige Frage des Vorkommens von B. coli in Teig, Mehl und Getreide ganz sicherzustellen. Zu diesem Behufe wurden 4 Schwarzbrot- und 4 Weißbrotteige untersucht und überall das B. coli isoliert. Dasselbe Resultat wurde auch bei der Untersuchung einer Probe Weizenmehl und verschiedener Cerealien und Leguminosen erhalten, wodurch der endgiltige Beweis geliefert ist, daß der provisorische Name B. levans zu verschwinden hat und daß B. coli als Organismus der Sauerteiggärung des Brotes zu bezeichnen ist. Weiter ist damit auch, ganz im Sinne Lehmanns, die geringe Bedeutung des B. coli als Indikator für Wasserverunreinigung bewiesen. Ueber diese Frage sind in letzter Zeit verschiedene Arbeiten erschienen, die zu ganz divergierenden Schlüssen geführt haben. Weissenfeld hat nachgewiesen, daß man in guten und schlechten Wässern B. coli züchten könne, während dagegen H. Chick nach wie vor B. coli als wichtigen Indikator einer Verunreinigung durch Effluvien des menschlichen Haushaltes betrachtet. Der scheinbare Widerspruch dieser Arbeiten erklärt sich aber ungezwungen aus der bei den Versuchen vorgenommenen Art der Kulturanlage.

In Zusammenfassung der sich ergänzenden Arbeiten von Weissenfeld, Chick und dem Verf. (einschließlich der Arbeiten Wolffin's und Fränkel's) ergiebt sich folgendes:

a) Entgegen den Angaben von Chick ist in Teig und Mehl stets das Vorkommen von B. coli nachgewiesen, ebenso sehr oft in Getreide, sowie man eine Vorkultur benutzt. Für diesen Teil der Frage ist die Methode von Chick geradezu unzweckmäßig, denn bei Substanzen, die unter praktisch leicht erfüllbaren Bedingungen zu guten Nährstoffen für die Bakterien werden können, wie Mehl, interessiert bloß, ob der fragliche Organismus überhaupt anwesend ist, da er sich ja unter Umständen mächtig vermehrt.

b) Aus den Versuchen von Chick folgt nur, daß reine Wässer und die meisten reinen Nahrungsmittel keine größeren Mengen von B. coli enthalten und kam zu ähnlichen Resultaten wie Hammerl. Wenn dagegen Schardinger trotz Verwendung einer Vorkultur zu ähnlichen Resultaten wie Chick kam, so macht dies den Eindruck, als ob teils Verwendung von zu wenig Wasser, teils sehr enge Fassung des Begriffes B. coli an dem Ergebnis schuld sei.

c) In Wasser ist die Anwesenheit von spärlichen Keimen von B. coli ohne jede diagnostische Bedeutung. Durch Anwendung einer Vorkultur kann man mindestens die Anwesenheit von spärlichen Individuen von B. coli sehr oft nachweisen, wie Weissenfeld gezeigt hat.

d) Die Anwesenheit zahlreicher Individuen von B. coli in einem frisch geschöpften Wasser kann, wie man längst gewußt hat, und wie Chick weiter festgestellt hat, den Verdacht auf fäkale Verunreinigung eines Wassers erwecken. Es muß aber bei der weiten Verbreitung des B. coli der Schluß auf das wirkliche Bestehen dieser Verunreinigung noch durch andere Hilfsmittel gestützt sein, denn z. B. die Abwässer einer Bäckerei können eine Menge B. coli in ein Wasser bringen. B. coli vermehrt sich unter günstigen Bedingungen (höhere Temperatur, Kohlehydrate u. s. w.) sehr leicht im Wasser. Nach Gordon ist B. coli auch bei jeder Fäulnis pflanzlicher Produkte zu finden, und nach Lehmann und Conrad ist auch bei der Sauerkrautgärung ein Glied der Coligruppen in Massen vorhanden. Stift (Wien).

Laurent, E., Observations sur le développement des nodosités radicales chez les Légumineuses. (Compt rend. T. CXXXIII. p. 1241—1243.)

Durch Versuche im Freien stellte Verf. den Einfluß verschiedener Salze auf die Bildung der Leguminosenknöllchen fest. Er kultivierte unter anderem eine Erbse (Merveille d'Amérique) 5 Jahre hintereinander in 5 verschiedenen Parzellen, von denen jedes Jahr No. 1 mit N-Salzen, No. 2 mit K-Salzen, No. 3 mit Ca-Superphosphat, No. 4 mit $CaCO_3$ und No. 5 mit NaCl gedüngt wurden. Es zeigte sich, daß in No. 1 ($NaNO_3$ oder $(NH_4)_2SO_4$) und No. 5 (NaCl) schon im zweiten Jahre keine Knöllchen mehr gebildet wurden, während bei No. 2 (K-Salze) und No. 3 (Superphosphat) die Knöllchen immer zahlreicher und dichter gedrängt auftraten und bei No. 4 (Kalk) zwar nicht viele aber immer sehr dicke Knöllchen erschienen. Die Versuchspflanzen waren aber bezüglich der Knöllchenbildung nur für den betreffenden Boden, nicht dauernd alteriert; denn in gewöhnliche Erde gebracht, produzierten alle wieder in normaler Weise zahlreiche Knöllchen. Die Ursache für das verschiedene Verhalten liegt vermutlich an den Leguminosenwurzeln, nicht an den Mikroben. Denn erstens bleiben die Bakterienkeime im Boden bei jeder Art Düngung erhalten — wie durch Infektion sterilisierten Bodens mit Erdproben aus No. 1 und No. 5 bewiesen wurde — und dann verhalten sich verschiedene Leguminosen denselben Salzen gegenüben verschieden. Vicia villosa und sativa beispielsweise bilden in No. 5 (NaCl), Vicia Faba in No. 1 ($NaNO_3$) und No. 5, wo bei Pisum die Knöllchen verschwanden, deren zahlreiche, während Lupinus luteus in No. 2 (K-Salze), wo Pisum-Knöllchen sich gut entwickelten, keine Nodositäten hervorbrachte.

Hannig (Straßburg).

Marchal, E., Influence des sels minéraux nutritifs sur la production des nodosités chez le Pois. (Compt. rend. T. CXXXIII. p. 1032—1033.)

Um festzustellen, ob bei Kulturen von Leguminosen in bak-

teroidenhaltigem Boden Nitrate ein spezifisches „antisymbiotisches“ Agens seien oder ob und bei welcher Konzentration auch andere Salze die Knöllchenbildung verhindern, stellte Verf. Wasserkulturen in Sachs'scher Nährlösung (ohne N-Salze) her, welchen er je eins der 14 geprüften Salze in verschiedenen Konzentrationsstufen zusetzte, impfte die steril gemachten Lösungen mit Bakteroïdenaufschwemmung und kultivierte Serien von ca. 100 Erbsenkeimlingen. In diesen Wasserkulturen verhinderten nun nicht nur die Nitrate, sondern überhaupt alle untersuchten NH_3-Salze die Knöllchenbildung, erstere schon bei Konzentration von $^1/_{10000}$, letztere bei solcher von $^1/_{2000}$, Ca-, Mg-Salze und Phosphorsäure dagegen wirkten mehr oder weniger begünstigend auf die Knöllchenbildung. Verf. schreibt die Hemmung der Beeinflussung der Mikroben durch die N-Salze zu, „dont le pouvoir osmotique incommode sans doute le Rhizobium et entrave son évolution“, welche Schlußfolgerung sich aber nicht mit den Befunden Laurent's (siehe vorhergehendes Referat) vereinigen läßt. Hannig (Straßburg).

Hiltner, Zur Kenntnis der Organismenwirkung im Boden und im Stallmist. (D. landw. Presse. 1901. No. 24, 25 und 27.)

Verf. ist der Ansicht, daß das Problem der Impfung landwirtschaftlicher Kulturböden mit Bakterienreinkulturen von spezifischer Wirksamkeit ein aussichtsvolles und eingehender Studien wohl würdiges ist. Er selbst hat bei Topf- und Feldversuchen durch Impfung mit verschiedenen, aus Boden und Stallmist gezüchteten Reinkulturen znm Teil recht erhebliche Mehrerträge gegenüber ungeimpften Vegetationsgefäßen und Parzellen erzielt. Interessant ist die hierbei aufgetretene Thatsache, daß in einigen Fällen denitrifizierende Bakterien, also solche, die durch Salpeterzersetzung zu Stickstoffverlusten führen können, erhöhend auf die Ernteerträge einwirkten. Alle von H. geprüften Reinkulturen waren dem bekannten bakteriologischen Impfdünger Alinit an Wirksamkeit überlegen. Verf. teilt einige Beobachtungen über die Einwirkung meteorologischer und klimatischer Einflüsse auf die Bakterienflora des Bodens mit und verspricht sich bei noch vorzunehmenden Bodenimpfungen viel von einer Störung des „Gleichgewichtszustandes,“ in welchem sich die den Boden bewohnenden Mikroorganismen für gewöhnlich befinden. Die Ackergare, also der Zustand des Bodens, in welchem die Bakterien in lebhaftester Vermehrung und Entfaltung ihrer Lebensthätigkeit begriffen sind, dürfte etwa das dem Gleichgewichtszustande entgegengesetzte Stadium sein. Auch die bekannte günstige Einwirkung des Schwefelkohlenstoffs auf die Ertragsfähigkeit des Bodens beruht auf einer Störung dieses Ruhezustandes der Bakterien, gewissermaßen auf der beschleunigten Herbeiführung einer Gare durch dieses chemische Mittel.

Bezüglich der Impfung von Leguminosen mit Reinkulturen weist Verf. auf die große Bedeutung der Virulenzverhältnisse der

zu verwendenden Knöllchenbakterien hin. Es verhielten sich z. B. Reinkulturen von Erbsenbakterien, welchen Gelegenheit geboten war, mehrmals nacheinander in den Wurzeln jugendlicher Erbsenpflanzen zu leben, von viel besserer Impfwirkung als andere Bakterien von geringerem Virulenzgrade. Diese gute Wirkung der virulenten Bakterien trat auch in nicht sterilisierter Erde, welche Erbsenbakterien der gewöhnlichen avirulenten Art schon reichlich enthielt, noch deutlich auf.

Die Leguminosenmüdigkeit mancher Böden wird nach Untersuchungen des Verf.'s durch eine Gruppe von Bakterien bewirkt, welche Pektin- und Cellulosegärungen verursachen.

Schließlich kommt Verf. auf die Bedeutung der Bakterien im Stallmist zu sprechen und weist unter anderem auf die interessante Thätigkeit eines Schimmelpilzes hin, welcher in ausgesprochener Weise Ammoniumsalze, besonders Ammoniumkarbonat als Stickstoffnahrung bevorzugt, und daher gewisse Mengen dieses flüchtigen und wertvollen, bei der Zersetzung des Harnstoffes entstehenden Körpers festzulegen vermag. Vogel (Posen).

Magnus, P., Eine zweite neue Phleospora von der deutschen Meeresküste. (Hedwigia. 1900. p. 111. Mit Taf. VII.)

Von Jaap wurde auf Eryngium maritimum bei Heiligenhafen ein Pilz entdeckt, den Magnus als neu erkannte und Phleospora eryngii nannte. Der Pilz besitzt intercellulares Mycel, das sich unter den Spaltöffnungen dichter verflechtet. Hier entsteht die Sterigmenschicht, welche die Spalte einfach durchwächst oder bisweilen die Cuticula der Schließzellen und der angrenzenden Epidermiszellen emporhebt. Die Sporen sind fädig und 3—5-zellig.

Ueber ähnliche auf Umbelliferen vorkommende Pilze verbreitet sich Verf. kurz und verspricht über ihre Systematik weitere Mitteilungen. Lindau (Berlin).

Neger, F. W., Beiträge zur Biologie der Erysipheen. [Zweite Mitteilung.] (Flora. Bd. XC. 1902. Heft 2.)

Die Keimungserscheinungen der Conidien zeigen bei den verschiedenen Erysipheenarten eine Reihe wichtiger Unterschiede. Zumeist treten die Keimschläuche an den Schmalseiten der Sporen oder in ihrer unmittelbaren Nähe hervor. Wenige Arten (Phyllactinia corylea, Erysiphe graminis u. a.) machen hiervon eine Ausnahme, da bei ihnen die Keimschläuche sehr häufig auch an den Langseiten entstehen. Die Länge der Keimschläuche, die Art der Verzweigung und Haftscheibenbildung läßt ebenfalls konstante Unterschiede erkennen. Licht bewirkt eine Beschleunigung der Keimschlauchbildung, sowie in vielen Fällen ein Wachstum des Keimschlauches gegen die Lichtquelle hin. Nach Verf. lassen sich die bei der Keimschlauchbildung beobachteten Vorgänge besonders für die Gattung Erysiphe zur Umgren-

zung der Arten verwerten. So z. B. läßt sich als sicher annehmen, „daß die auf Boragineen schmarotzende Erysiphe verschieden ist von dem auf Kompositen lebenden Mehltaupilz — beide bisher als E. Cichoriacearum bezeichnet. Gleiches gilt für Erysiphe auf Papilionaceen und auf Umbelliferen — beide bisher als E. Polygoni bezeichnet u. a." — Uncinula Aceris bildet zweierlei Conidien: normale, 30—35 μ große, die leicht abfallen und gut keimen, und rückgebildete, 8—12 μ große, die sich schwer voneinander ablösen und leicht zum keimen sich bringen lassen („Hungerconidien"). Möglicherweise sind sie als Analogon zu den bekannten, größtenteils keimunfähigen, in den Spermogonien der Uredineen und anderer Pilzgruppen gebildeten Spermatien zu betrachten."

Die „Infektionsversuche mittels der Conidien" bestätigten die aus der Betrachtung der Keimschläuche gewonnenen Resultate hinsichtlich der Selbständigkeit einzelner Formen (s. o. über E. Cichoriacearum). Aehnlich wie bei manchen Uredineen scheint auch bei vielen Erysipheen eine weitgehende Spezialisierung des Parasitismus sich geltend zu machen. Infektionsversuche mit Conidien ergaben, daß die Uebertragung eines Mehltaupilzes von einer Wirtspflanze auf die andere, die nach den bisherigen Anschauungen dem gleichen Pilz ebenfalls als Nährboden dienen kann, in vielen Fällen nicht gelingt. Der Umstand, „daß auf einjährigen Pflanzen, z. B. Senecio vulgaris .... eine Erysiphe sich in jedem Jahre reichlich entwickelt, ohne indessen je zur Perithecienbildung zu gelangen, legt die Vermutung nahe, daß mittels der Ascosporen die Uebertragung eines Mehltaupilzes von einer Art auf eine andere (Wirtspflanze) wohl möglich ist. Demnach waren die Ascosporen dadurch ausgezeichnet, daß sie das Bestreben zeigen, den Kreis der Wirtspflanzen eines Pilzes weit zu erhalten, während die Conidien sich sehr schnell einem bestimmten Substrat anpassen." Ein exakter Beweis hierfür wird sich nur schwer erbringen lassen. Verf. weist darauf hin, daß bei den Uredineen manche Beobachtungen auf eine analoge Bedeutung der Aecidien hinweisen.

Der Ernährungsmechanismus der Mehltaupilze ist verschieden je nach der Fähigkeit der Wirtspflanze, auf den vom Pilz ausgehenden Reiz zu reagieren. Die Haustorien beschränken sich auf die Epidermiszellen, wenn diese hypertrophieren (Sphaerotheca Humuli). Anderenfalls dringen sie häufig in das Mesophyll ein (z. B. Uncinula Salicis). Küster (Halle a. S.).

Eriksson, Jakob, Fortgesetzte Studien über die Hexenbesenbildung bei der gewöhnlichen Berberitze. (F. Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. VIII. Heft 2. p. 3—127. Tab. VI—VIII.)

Frühere Untersuchungen hatten die Zusammengehörigkeit von Aecidium graveolens (Shuttl.) Magn., welches an Berberis vulgaris Hexenbesenbildungen hervorruft, mit Puccinia Arrhenatheri (Kleb.) Eriks. auf Avena elatior erwiesen. Der

Zweck der vorliegenden war nun, nachzuweisen, daß auch eine Infektion mit den Teleutosporen des Graspilzes auf der Berberitze Hexenbesen hervorrufen kann. Verf. begann seine Versuche im Jahre 1897 und kommt bis zum Ende des Jahres 1900 auf Grund seiner Erfahrungen zu folgenden Schlüssen:

Puccinia Arrhenatheri kann die Berberitze thatsächlich anstecken und auf ihr den Hexenbesenrost erzeugen, jedoch beträgt die Inkubationsdauer zumeist ein Jahr. Die natürliche Eintrittsstelle des Pilzes ist die Centralknospe der zarten Blattrosetten, doch sind die Sporen oder Sporidien auch auf entwickelten Blättern der Rosetten nicht wirkungslos.

Die bedeutsamste Schlußfolgerung der sorgfältigen Arbeit von allgemeinem Werte ist jene von Eriksson vertretene Ansicht, „daß das Entstehen der Hexenbesen nicht so aufzufassen ist, als ob durch die Einwanderung des Pilzes die befallenen Gewebepartieen des Berberitzenstrauches in ihrer Entwickelung unterdrückt würden, sondern vielmehr so, daß diese dadurch zu einer enorm schnellen und kräftigen Höhe des Wachstums und der Verzweigung gereizt werden. Lange bleibt jedoch die anfängliche Ueberlegenheit dieser Teile nicht bestehen. Es tritt recht bald ein Zustand von Schwäche ein, welcher das Organ gegen die Winterkälte weniger widerstandsfähig macht und einzelne Teile desselben zu einem vorzeitigen Tode führt.“

Die drei Tafeln geben photographische Reproduktionen von Berberitzenzweigen mit durch künstliche Infektion hervorgerufenen Hexenbesen. France (Ung.-Altenburg).

Feinberg, Ueber den Erreger der krankhaften Auswüchse des Kohls (Plasmodiophora Brassicae Woronin). (Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 3.)

Die im Jahre 1874 zuerst von Woronin in krankhaften Auswüchsen des Kohls nachgewiesenen Myxomyceten haben in neuerer Zeit öfters die allgemeine Aufmerksamkeit auf sich gezogen, weil man zwischen ihnen und den gesuchten Erregern der menschlichen Geschwülste gewisse Beziehungen vermutete. Feinberg hat sich daher dem Studium der genannten Mikroorganismen gewidmet und diese in Kohlhernien verschiedener Kohlarten untersucht. Er fand die Sporen in Massen in den frischen Schnitten; ließ er Stücke von den letzteren im Wasser liegen, so konnten die Sporen nach 1—2 Tagen frei oder zu kleinen Schleimflöckchen vereinigt im Wasser gefunden werden. In geheilten Schnitten von Kohlhernien fand er: a) Zellen, die mit Sporen vollgepropft waren, b) Zellen mit ausgewachsenen Amöben, c) Zellen mit Uebergangsformen des Plasmodium zur Spore. Die Sporen erwiesen sich als runde Körperchen, etwas größer als die normalen Kernkörperchen der Wirtszellen, und waren von einer scharf erkennbaren doppelt konturierten Membran umgeben. Die ausgewachsenen Amöben hatten ein feinmaschiges Plasma und einen oder mehrere charakteristische Kerne. Die Kerne bestanden aus einem Kernkörperchen

und einer nach außen scharfgerandeten hellen Zone; das Bild verglich v. Leyden mit einem Vogelauge. Feinberg hat diese Kerne auch bei den Malariaplasmodien, wenn auch erst in einem einzigen Falle, gesehen und erklärt sie für eine Eigentümlichkeit der einzelligen tierischen Organismen. Bei menschlichen Geschwülsten hat er die Parasiten nicht gefunden, namentlich auch nicht die Sporen, die in den Kohlgeschwülsten durch ihre Massenhaftigkeit dem Untersucher niemals entgehen können.

Kübler (Berlin).

Noack, F., Eine Treibhauskrankheit der Weinrebe. (Gartenflora. Jahrg. L. 1901. p. 619–622.)

Es handelt sich hier um eine zweifellos nicht parasitäre Krankheit, die Verf. in einem Treibhause zu Darmstadt am blauen Trollinger beobachtet hat, wo sie empfindlichen Schaden angerichtet hatte. An den noch unreifen Beeren treten helle Flecke auf, die allmählich einsinken und sich bräunen. An den kranken Stellen stirbt das Fruchtfleisch ab. Außerdem finden sich Krankheitserscheinungen an den Blättern. Auf ihrer Ober- und Unterseite, hauptsächlich auf letzterer, zeigen sich zahlreiche, kleine, anfangs grünliche, später dunkelbraune Knötchen. Es sind dies abnorme Gewebewucherungen des Blattparenchyms. Diese Wärzchen stimmen mikroskopisch überein mit den Blattintumescenzen, die von anderen Pflanzen bereits beschrieben worden sind. (Sorauer Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1899. p. 457.) Nach Ansicht des Verf.'s werden die Krankheitserscheinungen lediglich durch die ungünstigen Vegetationsbedingungen im Treibhaus: hohe Temperatur bei ungenügender Transpiration hervorgerufen. Um die Krankheit zu bekämpfen, bezüglich zu verhüten, wird empfohlen, bei der Traubentreiberei für gute Lüftung zu sorgen und das Bespritzen möglichst einzuschränken. Laubert (Bonn-Poppelsdorf).

Baudisch, F., Ueber Hylastes cunicularius Er. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. Jahrg. XXVII. 1901. p. 509—511. 1 Abb.)

In einer 4-jährigen Fichtenkultur war eine größere Anzahl von Pflanzen durch den schwarzen Fichtenbastkäfer (Hylastes cunicularius) zum Absterben gebracht worden, wobei es durch Ausheben und Verbrennen den befallenen Pflanzen noch nicht gelang, die Vermehrung des Schädlings zu verhindern. Im darauffolgenden Juli nämlich und weiterhin zeigten sich unter den Fangrinden, welche zum Zwecke der Vertilgung des Hylobius abietis gelegt worden waren, beträchtliche Mengen des Hylastes, so daß namentlich an sonnigen Stellen auf Rindenstücken von ca. 600 ccm Größe 50 und mehr Käfer gefunden wurden, die sich bis an die Hinterleibsspitze in die Borke eingebohrt hatten. Die Ränder der Fangrinden wurden dabei bevorzugt. Daraus ergiebt sich die Nutzanwendung, daß ein bloßes Absuchen der Fangrinden nach dieser Käferart nicht genügt, sondern ein durchgreifender Erfolg nur von dem Sammeln der Stücke in Tücher und Ver-

brennen zu erwarten ist. Auch müssen die Fangrinden, um von Hylastes angenommen zu werden, fest am Boden aufliegen, daher mit Steinen oder Rasenstücken beschwert werden. Das Auslegen muß bis zum Spätherbst fortgesetzt werden, weil von den beiden Generationen, die Hylastes liefert, die zweite sich vielfach noch bis Ende Oktober zur Imago entwickelt. Als Vorbeugungsmittel empfiehlt Verf. hauptsächlich eine gründliche Stock- und Wurzelrodung, wo sie der Lage und der Kosten wegen anwendbar ist, sonst wenigstens eine Schlagruhe bis zu 2 Jahren und Anlage von Fanggräben; zu warnen ist vor der Tiefpflanzung von Fichten.

Jacobi (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hoffmeister, C., Zum Nachweis des Zellkerns bei Saccharomyces. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen 1902. No. 15. p. 225—230.)

Prall, F., Beitrag zur Kenntnis der Nährböden für die Bestimmung der Keimzahl im Wasser. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XVIII. 1902. Heft 3. p. 436—452.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Brown, H. T. and **Glendinning, T. A.**, The velocity of hydrolysis of starch by diastase, with some remarks on enzyme action. (Journ. of the chemical soc. 1902. April. p. 388—400.)

Cameron, P., Description of a new species of gall-making cynipidae (Callirhytis semicarpifoliae n. sp.) from the N. W. Himalayas. (Entomologist. 1902. Febr. p. 38—39.)

Dietel, P., Ueber die biologische Bedeutung der Paraphysen in den Uredolagern von Rostpilzen. (Beibl. z. Hedwigia. 1902. No. 2. p. 58—61.)

Grassberger, R., u. **Schattenfroh., A.**, Ueber Buttersäuregärung (II. Abhandlung). (Arch. f. Hygiene. Bd. XLII. 1902. Heft 3. p. 219—264.)

Henri, V., Action de quelques sels neutres sur l'inversion du saccharose par la sucrase. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 11. p. 353—354.)

Hesse, A., Nochmals die Schwefelsäurehefe. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1902. No. 15. p. 159—161.)

Lesage et **Dongier**, Étude de la fermentation lactique par l'observation de la resistance électrique. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 10. p. 612—614.)

Maassen, A., Die biologische Methode Gosio's zum Nachweis des Arsens und die Bildung organischer Arsen-, Selen- und Tellurverbindungen durch Schimmelpilze und Bakterien. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XVIII. 1902. Heft 3. p. 475—489.)

Prunet, A., Développement du black rot. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 18. p. 1072—1075.)

Thomas, P., Sur la séparation du galactose et du glucose par le Saccharomyces Ludwigii. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 10. p. 610—612.)

Zykoff, W., Wo sollen wir den Zwischenwirt des Cystoopsis acipenseri. N. Wagn. suchen? (Biolog. Centralbl. 1902. No. 8. p. 229—233.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Milch, Molkerei.

Doane, C. F., and **Price, T. M.**, The comparative digestibility of raw, pasteurized and cooked milk. (Maryland agricult. experim. stat. 1901. Bullet. No. 77. 38 p.)

Wein, Weinbereitung.

Muntz, A., Recherches sur l'influence de la pourriture grise du raisin sur le rendement et la qualité des vins. (Annal. agronom. 1902. No. 4. p. 177—208.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Schmidt, H., Ueber die Einwirkung gasförmiger Blausäure auf frische Früchte. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XVIII. 1902. Heft 3. p. 490—517.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Gateshead, J. B., Bacteriosis in orchids. (Gard. chronicle. London 1902. Vol. XXXI. 1902. p. 12.)

Gerber, C., Sur une hemiptérocécidie et une coléoptérocécidie des environs de Marseille. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 15. p. 476—477.)

Hennings, P., Ueber das epidemische Auftreten von Cronartium ribicola Dietr. im Dahlemer botanischen Garten. (Notizbl. d. kgl. botan. Gart. u. Mus. in Berlin. Bd. III. 1902. No. 28. p. 172—175.)

Hertzog, Peronospora und Oïdium. (Landwirtschaftl. Ztschr. f. Elsaß-Lothringen. 1902. No. 19. p. 314—316.)

Lochhead, W., Injurious insects of the season of 1901. (32. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1901. Toronto 1902. p. 43—50.)

Magnus, P., Ueber den Stachelbeer-Mehltau. (Gartenflora. 1902. Heft 9. p. 245—247.)

Noël, P., La cécidomyie du hêtre (Hormomyia fagi). (Naturaliste. 1902. No. 365. p. 118.)

Rother, Was ich gegen den Gummifluß that. (Erfurter Führer im Gartenbau. 1902. p. 409—410.)

Steffen, J., Eine kleine Erinnerung an die Dürrfleckigkeit der Johannisbeeren. (Erfurter Führer im Gartenbau. 1902. p. 364.)

Woods, Ch. D., Experiments with fungicides on potatoes in 1900. (17. ann. rep. of the Maine agricult. experim. stat. Orono 1901. 1902. p. 49—57.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Capdevielle, A., Contribution à l'étude de l'action des rayons chimiques de la lumière sur la peau et sur les microorganismes. Thèse. Lyon. 1901.

Disinfection. Experiments on Disinfection. Report by the Medical Officer presenting Joint Report by Drs. Klein, Houston, and Gordon on the result of their experiments in connection with the subject of disinfection. London 1902. 4 d.

Ullmann, J., Ueber die Einwirkung elektrischen Bogenlichts auf Mikroorganismen in Gegenwart von fluorescierenden Stoffen. Inaug.-Dissert. München 1901. 16 p. 8°.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 28. Juli 1902. **No. 3/4.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Die bei der Herstellung von Gärfutter (Silage) wirkenden Ursachen.

[Aus den chemischen und bakteriologischen Laboratorien der landwirtschaftlichen Versuchsstation von Wisconsin.]

Von **S. M. Babcock** und **H. L. Russell**, Madison, Wis. U. S. A.

Die Bildung von Silage aus saftigem Futter, indem man es in luftdichte Behälter (Silos) einschließt, ist im allgemeinen als ein Gärungsprozeß erklärt worden, in welchem Bakterien als wichtigste wirkende Kraft angesehen sind. Es ist bemerkenswert, daß einem Prozesse von so großem wirtschaftlichen Werte bisher so wenig wissenschaftliches Studium gewidmet worden ist; die Forschungen wurden vor einigen Jahren begonnen, um, wenn mög-

lich, die Faktoren, welche bei der Bildung von Silage thätig sind, zu ermitteln.

Ehe auf die Einzelheiten der Experimente eingegangen wird, ist es empfehlenswert, die zu dem Prozeß gehörenden Veränderungen kurz anzugeben. Wenn grünes Futter in gewöhnliche Silos gepackt wird, sind die sichtbarsten Phaenomena, welche mit diesem Prozesse verbunden sind, die Farbenveränderung und die Entwickelung eines mehr oder weniger säuerlichen Geschmackes, welcher von der Bildung eines aromatischen Geruchs begleitet ist. Es ist auch eine bedeutende Gasentwickelung zu erkennen, welche aber natürlich dem zufälligen Beobachter nicht sichtbar ist; da diese Gasbildung aber immer vorkommt, wenn die Futter ensiliert sind, so darf man sie als eine Begleiterscheinung ansehen.

Ursache der Anfangserhitzung.

Alle neueren Arbeiten über die Veränderungen des Silage und ganz besonders über die Temperatursteigerung, welche sofort nach dem Einlegen des Futters beobachtet wird, scheinen die Erzeugung der Wärme der Thätigkeit der Bakterien zuzuschreiben, hauptsächlich den thermophilen und gegen Hitze beständigen Formen.

Die obige Ansicht, welche von einer bedeutenden Anzahl Forschern [1]) ausgesprochen wird, stellt dar, was man im allgemeinen geneigt ist, als die Ursache der Anfangserhitzung anzusehen. Vor beinahe 2 Jahrzehnten trat Fry [2]) mit der Ansicht hervor, daß diese Erhitzung auf die Respiration der zerschnittenen Pflanzengewebe zurückzuführen sei, aber seine Ansichten fanden keinen Beifall und sind seit jener Zeit ganz außer Acht gelassen worden, da man vorherrschend dahin neigte, alle fermentativen Wirkungen auf die Thätigkeit von Mikroben zurückzuführen.

Wirkung der direkten Respiration auf die Wärmebildung.

Daß größere Wärmemengen sich als das Resultat der direkten Oxydation von organischen Stoffen durch die Respiration lebender Gewebe entwickeln, ist ein physiologisches Fundamentalgesetz und zugleich eines, welches hier unzweifelhaft wirksam ist, denn die hauptsächlichste Wärmeerzeugung wird in den oberen Schichten des Silage, welche unmittelbar der Luft ausgesetzt sind, beobachtet. Man kann zwischen der Wärme, welche durch direkte Respiration hervorgerufen ist, und der durch Bakterienwachstum erzeugten nach dem Maße ihrer Entwickelung unterscheiden. Die Wärme, welche durch direkte Respiration der Pflanzenzellen hervorgerufen ist, erreicht ihr Maximum früher, weil die die Wärme erzeugenden Zellen bereits thätig sind, während, wenn die Wärme durch Bakterien und Schimmelbildung verursacht ist, diese verzögert wird, wegen des für die Inkubation nötigen Zeitraumes, der

---

1) Burrill, Bull. 7, III. Expt. Station; Griffiths, Chem. News, Vol. LXX. No. 1. p. 828; Lafar, Technical mycology. p. 262, Story of germ life. p. 113.

2) Fry, Theory and practice of sweet ensilage. p. 17.

vergehen muß, ehe die Bakterien sich hinreichend vermehrt haben, um irgend welche wahrnehmbare Wärme zu verursachen. Dieses wurde experimentell in einer Reihe von Fällen bewiesen, wo eine Temperatursteigerung von 15—20° C bei frisch geschnittenem Korn nach 12 Stunden gefunden wurde. Ohne Zweifel wird die respiratorische Thätigkeit gesteigert, wenn die Pflanzengewebe in kleine Stückchen geschnitten werden, wie Pfeffer[1]), Boehm[2]) und Richards[3]) gezeigt haben.

Die ganze, sich in dem Silo entwickelnde Wärme darf man jedoch nicht der direkten Respiration der ensilierten Gewebe zuschreiben, weil CO_2 sich binnen wenigen Stunden nach dem Einlegen entwickelt und darin während mehrerer Tage, wenn bereits aller freier Sauerstoff verschwunden ist, fortfährt. Dies würde bei direkter Respiration nicht der Fall sein, da das Volumen von CO_2 das des in Betracht kommenden O nicht übersteigt; aber bei intramolekularer Respiration, wo das kombinierte O gebraucht wird, kommt Entwickelung von CO_2 vor. Allerdings muß Wärme diesen Wechsel begleiten und daher ist dieser Faktor in einem Silo, wo die Ausstrahlung sehr vermindert wird, von Bedeutung.

Unter normalen Verhältnissen, wo die Luft ausgeschlossen ist, kommen durch Bakterien und Schimmel hervorgerufene Gärungen nicht vor. Dies ist besonders in den Anfangsstadien der Fall, so lange die Pflanzenzellen noch am Leben sind, da Organismen dieser Klasse, außer jenen, welche Krankheiten in den Zellen hervorrufen, in lebenden Protoplasmen nicht entwickelungsfähig sind. Wenn der Silo später, nach dem Absterben der Pflanzenzellen geöffnet wird, tritt ohne Ausnahme eine rapide Temperatursteigerung ein, welche sich oft der nähert, welche durch direkte Respiration hervorgerufen wird.

Ursprung von Gärfuttergasen.

Durch das Studium der Entstehung der Gärfuttergase wird auf den ganzen damit verbundenen Prozeß wesentlich mehr Licht geworfen. Die Analyse der Gase von normalem Korn-Silage zeigt nur das Vorhandensein von Kohlensäuregasen, während Stickstoff und Wasserstoff bei Korn-Silage, wo normale Bedingungen vorherrschen, nicht vorhanden sind. Wenn Bakterien, verbunden mit organischer Zersetzung, in Silage vorhanden und thätig wären, müßten auch die Gase, welche sich bei Fäulnis- oder Zersetzungsprozessen entwickeln, vorhanden sein. Wo gasbildende Bakterien vorhanden sind, bildet sich immer als Zusatz zu CO_2 ein rückständiges Gas, welches brennbar und zum größten Teile aus Wasserstoff besteht; in manchen Fällen auch möglicherweise mit einer Beimischung von Kohlenwasserstoffen (Methan etc.).

Wo Veränderungen in der Proteïdzersetzung vorkommen (Fäulnisprozesse), wird auch Ammoniak erzeugt, aber bei der Bildung dieses Gases entwickeln sich ebenfalls Kohlenwasserstoffe.

1) Jahr. Ag. Chem. 1896. p. 254.
2) Bot. Cent. 50. 1892. p. 20.
3) Ann. Bot. X. p. 531. XI. p. 31

Wenn man diese Grundsätze bei dem Studium der Natur der Gase im Silo in Anwendung bringt, erscheint es möglich, bedingungslos festzustellen, ob irgendwelche dieser Gase mit den Gärungsprozessen in Zusammenhang stehen.

Diese Differenzierung kann durch eine Analyse der Silogase, welche nach der Absorption von CO_2 zurückbleiben, gemacht werden, welche Methode bei den Gasen, die in 2 kleinen, mit Korn gefüllten Silos vorhanden waren, angewandt worden ist. Eines dieser Silos war 33 Tage lang gefüllt gewesen und wurde während dieser Zeit ständig beobachtet, um festzustellen, in welchem Maße sich Gas entwickelt. Während der letzten 2 Wochen dieses Zeitraumes war die Gasentwickelung sehr träge und daher waren die Umstände für die Feststellung, ob die Gase bakteriellen oder anderen Ursprungs waren, sehr günstig.

Das Gas dieses Silos wurde erst durch einen Absorptionsapparat, Kalihydrat (KOH) enthaltend, geleitet, um CO_2 zu entfernen; dann durch Schwefelsäure (H_2SO_4) und Calciumchloride ($CaCl_2$), um die Entfernung der Feuchtigkeit zu bewirken. Das Gas wurde dann durch eine Verbrennungsröhre geführt, welche mit glühendem Kupferoxyd gefüllt war.

Die Verbrennungsprodukte wurden alsdann durch eine abgewogene $CaCl_2$-Röhre geführt, um das Wasser zu absorbieren, und nachher durch Bariumhydrat ($Ba(OH)_2$), um CO_2 nachzuweisen. Als Resultat dieses Experiments zeigte sich, daß weder Wasserstoff noch Kohlenwasserstoff vorhanden war, selbst nachdem man dem Silo 10 l Gas entnommen hatte.

Diese Probe wurde bei Gas aus einem anderen, nur 12 Tage lang gefüllt gewesenem Silo mit denselben Resultaten wiederholt. In diesem Falle hatte die Gasentwickelung aus dem Silo thatsächlich aufgehört.

Die Schlüsse, welche aus diesen Experimenten zu ziehen sind, bestätigen die vorausgeschickte Hypothese, daß die Gase von Korngärfutter so beschaffen sind, daß sie durch die Thätigkeit solcher fermentativen Organismen, wie Bakterien, nicht erzeugt werden können.

Ursache der Veränderungen bei der Bildung von Silage.

Ein Vergleich der chemischen Zusammensetzung von grünem Korn und Gärfutter ergiebt, daß das letztere unveränderlich eine vermehrte Menge organischer Säuren, eine verringerte Menge Kohlenhydrate und in weniger ausgesprochenem Maße Albuminoide enthält. Im allgemeinen haben alle Forscher dieses Problems die hervorgerufenen Veränderungen der direkten fermentativen Thätigkeit (Essig-, Milch- und Butterbakterien [1]) zugeschrieben; doch sind die bisher erbrachten Beweise weit davon entfernt, diese Frage hinreichend und endgültig zu entscheiden.

---

1) Die früheren Versuche über diese Frage wurden unter unserer Aufsicht durch Herrn H. A. Harding, jetzt an der New York (Geneva) Expt. Station, ausgeführt.

Bildung des Gärfutters unter dem Einfluß von Anaestheticis.

Wenn geschnittene Kornteile in feste Behälter gelegt werden, deren Atmosphäre mit irgend einem flüchtigen Anaestheticum, wie z. B. Aether, Chloroform oder Benzol, wovon das letztere später entfernt werden kann, durchtränkt ist, wird typisches Gärfutter erzeugt; jedoch mit dem Unterschiede, daß in solchen Fällen die Säurebildung eine viel geringere ist. Versuche dieser Art sind während mehrerer Einlegeperioden unter den verschiedensten Bedingungen mit den gleichen Resultaten wiederholt worden [1]). Diese Resultate ergeben, daß lebende Organismen wie Bakterien nicht notwendig sind, um gutes Gärfutter herzustellen.

Die Bedingungen, unter denen diese Experimente angestellt werden, verhinderten die Thätigkeit der Bakterien und anderer lebender Organismen und schlossen diese Organismen als einen notwendigen Faktor zur Erklärung der bei der Bildung von Silage entstehenden Veränderungen aus.

Wie können also diese Ergebnisse sonst erklärt werden? Es scheint fast, wenn man aus den obigen Experimenten schließt, als ob die Ursache der Veränderungen in der Pflanzenzelle selbst zu suchen wäre.

Versuche einer Erklärung dieser Hypothesen.

Zwei Hypothesen, welche die Möglichkeit in sich schließen, Licht auf diese Erscheinung zu werfen, kommen in Betracht.

I. Veränderungen, die von dem Protoplasma der Pflanzenzelle selbst begonnen und geregelt werden.

II. Veränderungen, die durch die Thätigkeit der von den Pflanzenzellen gebildeten Enzyme hervorgerufen werden.

Protoplasma und von denselben gebildete Enzyme sind in so enger Beziehung zu einander, was ihre Thätigkeit anbetrifft, daß es gänzlich unmöglich ist, das eine von dem anderen zu unterscheiden. Die intramolekularen Veränderungen, welche in dem Protoplasma vor sich gehen, wo gewöhnliche metabolische Prozesse wegen des Ausschlusses von Sauerstoff aufgehoben sind, endigt immer mit der Bildung organischer Säuren und mit einer teilweisen Verminderung der Albuminoide.

Die intramolekularen Prozesse hängen von der Dauer der Lebenskraft der Zelle ab und sind augenscheinlich geringer, wo die begleitenden Umstände den Tod beschleunigen. Dieses mag die Erklärung der Thatsache sein, daß das Futter, welches bei Gegenwart von Aether und anderen Anaestheticis eingelegt ist, die ein schnelles Aussetzen der Lebensthätigkeit sowohl von Bakterien, wie Pflanzenprotoplasma verursachen, weniger Säure enthält. Die Thatsache, daß das eigentümliche Aroma und die Farbenveränderung in Aethersilage vorkommt, würde darauf hindeuten, daß diese Veränderungen nicht der direkten Thätigkeit des lebenden Protoplasmas der Pflanze zuzuschreiben ist, da der Aether schnell einen Still-

---

1) Die früheren Versuche über diese Frage wurden unter unserer Aufsicht durch Herrn H. A. Harding, jetzt an der New York (Geneva) Expt. Station, ausgeführt.

stand der Thätigkeit der Protoplasmafunktionen verursacht. Wenn dagegen Körper von der Natur der Enzyme durch die Pflanzenzellen gebildet werden, so würden dieselben doch, trotz der Gegenwart solcher Anaesthetica, wie sie hier angewendet worden sind, noch thätig sein. Es ist wohlbekannt, daß solche chemische Gärungen bei dem Absterben des Protoplasmas häufig vor sich gehen, wie es auch durch die Untersuchungen Loew's[1]) über die Veränderungen, welche bei dem Einlegen von Tabak stattfinden, nachgewiesen worden sind.

Wenn es möglich wäre, das Leben der Pflanzenzellen durch eine Athmosphäre ohne freien Sauerstoff zu verlängern und so die Nebenprodukte der intramolekularen Atmung zu vermehren, ist es wahrscheinlich, daß die Menge der im Silage gebildeten organischen Säuren größer wäre, als dort, wo der Zellentod beschleunigt wurde. Dieses bewerkstelligte man dadurch, daß das geschnittene Futter in geschlossene, mit verschiedenen Gasen (Wasserstoff, Stickstoff und Kohlensäuredioxyd) gefüllte Gefäße gelegt wurde, um Sauerstoff auszuschließen ohne die sofortige Aufhebung des Lebens. Bei diesen Versuchen[2]) behielt das dem Wasserstoff und Stickstoff ausgesetzte Futter seine grüne Farbe viel länger als dasjenige, das dem Kohlensäuredioxyd ausgesetzt gewesen, und durch Respirationsuntersuchungen wurde bewiesen, daß das dem CO_2 ausgesetzt gewesene Korn viel schneller abstarb, als dies dort der Fall war, wo Gewebe in unwirksames Gas kamen und daß das durch intramolekulare Prozesse entwickelte CO absorbiert wurde.

Um zu rekapitulieren: Die Kräfte, welche den Tod der Pflanzengewebe beschleunigen (CO_2, Aether etc.) ergeben die Präservierung des Futters mit einer minimalen Erzeugung von Säureprodukten. Dort jedoch, wo die Protoplasmafunktion verlängert wird, wie bei Stickstoff und Wasserstoff, wird die Menge der Säureproduktion bedeutend vermehrt. Wenn dieses zutrifft, kann man gleich den günstigen Einfluß von CO_2 auf ein Silo erkennen, da dieses Gas einen rascheren Tod der Zellen bewirkt und dadurch die unvermeidlichen Verluste verringert.

Der schnellere Zellentod in CO_2 wird durch die bekannte toxische Wirkung dieses Gases im Vergleich mit dem unwirksamen Wasserstoff und Stickstoff erklärt. Das Gärfutter brachte in diesen unwirksamen Gasen bedeutend mehr organische Säuren hervor, als in CO_2 und bewies dadurch, daß die Vermehrung der Menge dieser Nebenprodukte der intramolekularen Respiration durch eine Verlängerung des Lebens der Pflanzenzellen verursacht worden ist.

Diese Annahme wird weiter durch die Versuche unterstützt, welche mit Kornfutter, das in verschiedenen Reifestadien eingelegt war, gemacht worden sind.

Einfluß der Reife des Kornes auf die Qualität des Gärfutters.

Während der Zeit des Wachstums einer jeden Pflanze ist das

1) Loew, Rept. 59. Div. V. P. P. U. S. Dept. of Agr.

2) Die Einzelheiten dieser und einer Anzahl der folgenden 1900 gemachten Versuche wurden unter unserer Leitung von unserem Assistenten Herrn E. G. Hastings ausgeführt.

Protoplasma von viel wirksamerer Art, als in dem Stadium der mehr vorgeschrittenen Reife, wo die Fruchtbildung mehr oder weniger beendigt ist. Daraus folgt, daß eine von der Protoplasmafunktion der Pflanzenzellen abhängige Erscheinung mehr während des Stadiums, wenn diese Thätigkeit am größten ist, hervortritt. Insofern als Protoplasma ohne Zweifel während der Inflorescenzperiode lebhafter und vielleicht auch reichlicher ist, als während des Reifens der Frucht, wird bewiesen, daß auch die intramolekularen Vorgänge länger fortgesetzt und daher die Nebenprodukte dieser Thätigkeit (organische Säuren und CO_2) in größerer Menge erzeugt werden, als während der früheren und aktiveren Periode.

Dieses physiologische Prinzip auf das Einlegen von Korn angewandt, haben wir gefunden, daß, wenn solche Gewebe während der Blütezeit eingelegt wurden, die Menge der Säureprodukte größer war, als bei fast reifem Korn. Solches Futter könnte man allgemein als „saures“ Gärfutter klassifizieren. Es war nicht nur dieser große Unterschied in der Säure vorhanden, sondern sogar die Farbe und das Aroma des unreifen Kornes unterschied sich von dem anderen.

Bei dem unreifen Korn war kein ausgesprochenes Silage-Aroma vorhanden, sondern es behielt den Geruch und Geschmack präservierten grünen Gewebes und dieser war nur durch den scharfen, säuerlichen Geschmack verdeckt. Wo diese eingelegten Gewebe unter Gärfutterbedingungen gehalten wurden, war manchmal ein ausgesprochener unangenehmer Geruch vorhanden, der beginnender Fäulnis ähnelte. Mit der Zeit wurden die Gewebe weich, besonders an den Halmknoten. Eine Untersuchung dieser unreifen Gewebe auf Bakterien ergab die Anwesenheit von Anaërobien.

Wo Korn von solcher Reife, wie es gewöhnlich für Gärfutter verwendet wird, unter ähnlichen Bedingungen eingelegt wurde, erzeugte es den normalen aromatischen Geruch; niemals zeigte solches Gärfutter Fäulnisveränderungen. Dasselbe allgemeine Prinzip zeigte sich auch, wo Aepfel in verschiedenen Reifestadien mit und ohne Anaestheticis eingelegt wurden.

Die Erklärung dieser Unterschiede ist im Lichte des vorhergenannten allgemeinen physiologischen Gesetzes vollkommen bewiesen. Die unreiferen und dadurch lebhafteren Gewebe waren tiefgehenden intramolekularen Veränderungen unterworfen und infolgedessen war die Säure des Gärfutters viel größer. Die Erzeugung beginnender Fäulnisgerüche, welehe die Schmackhaftigkeit des Futters bedeutend herabsetzt, ist ohne Zweifel nicht auf die intramolekularen Pflanzenveränderungen, sondern auf die Zersetzungsprodukte zurückzuführen, die durch in diesen toten organischen Geweben unter anaërobischen Bedingungen gedeihende Bakterien gebildet werden.

Diese im Laboratorium gewonnenen Ergebnisse werden reichlich durch die Versuche Jener bestätigt, die versucht haben, Korn in zu unreifem Zustande einzulegen. Erfahrungsgemäß ist solches Futter außerordentlich sauer und enthält oft Fäulnisprodukte in solcher Menge, daß es „faules Gärfutter“ genannt wird. Soweit es

die Kornpflanze anbetrifft, scheint es, daß die Erzeugung der eigentümlichen Eigenschaften, die erstklassiges Gärfutter enthält, mit einem bestimmten Reifegrade der Pflanze verbunden ist.

Versuche mit gefrorenem Korn.

Die Beziehung der Pflanzenzelle selbst zur Gärfutterbildung wird auch durch die folgenden Versuche, wo das geschnittene Korn unter Silobedingungen behandelt und dann zum Gefrieren gebracht wurde, um die Pflanzenzelle zu töten, schlagend bewiesen. Das Gefrieren konnte wohl die Pflanzenzelle, jedoch nicht das Leben der Bakterien zerstören; wenn sich daher unter diesen Bedingungen kein Gärfutter bildete, würde dies beweisen, daß der Prozeß mit der Thätigkeit des pflanzlichen Protoplasmas, anstatt mit Bakterien, verknüpft ist. Proben, die so behandelt waren, wurden nach einem Zeitraum von 22 Tagen geöffnet und ergaben die folgenden Resultate:

Die Vergleichsprobe, welche auf übliche Weise eingelegt worden war, hatte ein ausgesprochenes Gärfutter-Aroma, welches für das aus unreifem Korn hergestellte Silage charakteristisch ist. Die gefrorene Probe dagegen hatte keine Spur von Gärfutter-Aroma, wohl aber einen ausgesprochen widrigen Geruch, wie nach beginnender Fäulnis. Eine andere Probe der gefrorenen Gewebe, der Aether beigefügt worden war, erwies sich gänzlich ohne Silagegeruch und war nur präserviertes grünes Korn.

Eine bakteriologische Untersuchung zeigte in den Proben, denen kein Aether beigefügt worden war, Organismen in beträchtlicher Zahl; in beiden Fällen war die vorherrschende Form eine kleine, nicht verflüssigende Art. Dieses Faktum ist bei der Erwägung, ob die Ursache von Silageveränderungen, Bakterien oder der Thätigkeit der Pflanzenzellen zuzuschreiben ist, von Wichtigkeit. Sollte sie Bakterien dieser Art zuzuschreiben sein, so hätte gefrorenes Korn ebenso gutes Preßfutter ergeben müssen, wie das andere.

Eine Bestimmung der Säuren in diesen Proben ergab 12,5 g bei der Vergleichsprobe (normales Gärfutter erforderte zu seiner Neutralisierung 5,5 ccm $\frac{n}{5}$ Alkali), während die gefrorene Probe 5 ccm N—5 Alkali erforderte und die gefrorene Probe, welcher Aether hinzugefügt worden war, nur 2 ccm erforderte. Dieses deutet darauf hin, daß, während sich thatsächlich dasselbe Quantum Säure in der gefrorenen Probe als Ergebnis der Bakterienentwickelung bildete, diesem Korn doch die erforderlichen Eigentümlichkeiten fehlten, die gutes Gärfutter von grünen Korngeweben, die bakterieller Gärung unterworfen waren, unterscheiden.

Danach dürfte man annehmen, daß die sofortige Zerstörung des Lebens der Pflanzenzellen die Veränderungen verhinderte, welche die Silagebildung charakterisieren. Unter diesen Bedingungen wären alle Respirationsprozesse (intramolekulare sowohl als direkte) sofort unterbrochen; wenn diese daher ursächliche Faktoren bei der Herstellung von Silage wären, würden mit den Geweben nicht die gewöhnlichen Veränderungen vor sich gehen, welche für normale Gärfutter charakteristich sind.

Bacteriological investigations of the Ames sewage disposal plant.

By **L. H. Pammel.**

With 3 plates.

At the last annual meeting I made a brief report on the sewage disposal plant at Ames and its efficiency for the purification of sewage. As this paper has not been published I have briefly described the plant and given a summary of results from the beginning of the operation of the plant up to the present time.

The Ames sewage disposal plant was designed by Prof. A. Marston[1]) and put into operation in 1898. Briefly it consists of two filter beds, each bed is 55 × 150 feet having an area of about 0,2 of an acre and is made up of sand and gravel 4,5 feet deep over the under drains and 3,5 feet deep midway between them. The sewage is discharged into a receiving tank which is 22 × 56 × 4 feet having a concrete bottom, brick walls and a wood cover coated with tar and gravel. At the end of the tank where the sewage enters an area of about 8 × 20 foet is partitioned off for a settling chamber to receive most of the solids in the sewage. By division walls the sewage is compelled to flow slowly back and forth across this chamber for a distance of 60 feet, after which it passes through a screen into the flushing chamber. The flushing chamber has a capacity of 20000 gallons and whenever the sewage in it rises to the high water line, the entire contents are discharged automatically by an automatic syphon upon the filter beds.

The average effective size of the sand and gravel is 0.33 mm for bed 1 and 0.37 for bed 2. The average uniformity coefficient is 10 for bed and 7.1 for bed 2.

The sewage from the tank is brought in sewer pipes extending along two sides of each bed and flows out on the surface through twelve wooden gates for each bed. The effluent is removed by three tile drains under each bed and discharged into a small brook. A continuous automatic record is kept of the rate of flow of sewage. The rate varies from month to month but the average is somewhat more than 40,000 gallons daily. Hence the rate of filtration is over 100,000 gallons per acre per day. About 800 persons contribute to the sewage, as well as waste from laboratories and a large creamery. Such a plant can be put in operation for $ 3,000. The bacteriological results show that the plant is a most efficient one, and its efficiency has increased with the age of the filter beds.

Bacteriological and chemical analyses have been kept up nearly continually since the plant has been in operation. The effluent was examined daily and the manhole and tank once a week.

---

1) Marston, A., Weems, J. B. and Pammel, L. H., The Iowa State College sewage disposal plant and investigations. Bull. Sewage Investigations. I. S. C. 1. 1900.

Much of the bacteriological work during the past year has fallen upon on Mr. F. W. Faurot and Mr. I. S. Hunt.

During the first two or three weeks of the operation of the filter bed the bacteria were not removed very efficiently. From September 15 to October 1 the effluent had 656,200 to 1,250,800. The manhole on October 1 had 750,000; tank, 372,000; the effluent, 656,000. Evidently biological filtration had not been operating sufficiently to remove the sewage bacteria and the filter was not compact enough. The effluent gradually contained a smaller number of bacteria. On November 5, 1899 there were 12,200 bacteria per cc. On December 1. of the same year the manhole contained 3,160,000; the tank, 940,000; effluent, 22,680 bacteria per cc. From December 26 to January 2, 1900, the effluent did not run. On January 11 the manhole had 345,864; tank, 31,200; effluent 8,600 bacteria per cc. The filter bed was frozen on February 9, 1899 and the effluent was not obtained until April 30, when it contained 4,075 bacteria per cc. May 3 the manhole had 194,956; tank, 168,600; effluent 11,520. During the month of May the number of bacteria in the effluent fluctuated between 1,770 and 18,000. The efficiency of the west filter bed which was sampled much more frequently than the east is shown from the fact that the tank on June 28 contained 1,108,000 bacteria per cc, the effluent only 2,640. The effluent worked very satisfactorily during the month of July. The lowest number found in the effluent of the west bed was 960 on July 2. The sewage discharge was then less owing to the College vacation. The efficiency of the east filter bed is also shown in the removal of bacteria. The manhole on July 5 had 708,000 bacteria; the tank 814,000, effluent 1,280. On August 9 the number of bacteria in manhole ran up to 3,840,000; tank, 1,240,000; effluent, 3,000. September 5, an unusual number of bacteria were found in the manhole. This high number kept up during the entire month of September. On September 5, there were 9,000,000; Sept. 12th, 8,600,000; Sept. 19th, 7,260,000; Sept. 27th 9,600,000; on the 5th the effluent of the west filter bed had only 600 bacteria. The effluent of the east filter bed on Sept. 27th had 8,160 per cc. On October 3, the number of bacteria in the manhole dropped to 4,800,000 with a few less in the tank. The effluent from the west filter bed contained 3,720 per cc. There was no appreciable change in the manhole till October 24, when the number increased to 6,760,000. The effluent from the west filter bed had 3820 bacteria per cc. There was a continuous rise till November 7th, when the number increased to 6,800,000 in the manhole; the tank contained 4,350,000; the effluent of west filter bed contained 2,040. The Explanation of the rise and fall of the bacteria and tank is not far to seek. Temperature is the important factor. This is shown in the following table:

(See table page 91.)

The summary of the results for 1899 are given in a paper on the Iowa [1]) State College sewage disposal plant.

1) l. c.

Bacteriological Results and Temperatures, August 1899—September 1900.

Month	Effluent	Temperature Fahr.	Manhole	Temp. Fahr.	Tank	Temp. Fahr.
August	2,246	72,3 air	2,392,600		1,358,300	
September	3,660		8,815,000		3,245,000	
October	4,230		6,064,800		4,941,000	
November	2,261		4,537,333		3,014,000	
December	2,319		816,333		848,000	
January	830		848,000		726,000	
February	3,451		345,553		233,810	
March	20,480		132,125		112,500	
April	13,263	62 water	2,121,000		1,392,000	
May	3,077	72,3 air 61,7 water	1,021,000		783,300	
June	2,359	77,1 air 69,4 water	1,318,100	77	1,319,300	67
July	2,270	78,4 air 72 water	3,908,700	67,6	4,578,333	65
August	546	83 air 74 water	403,118	70,6	215,700	66,6
September	850		1,181,533		383,733	

The average results of the effluent for 1890—1900 are shown in the following table given by Walker[1]).

Average number of germs per cubic centimeter, in effluent

Month	1899	Average
August		2,246
September		3,660
October		4,230
November		2,261
December		2,319
	1900.	
January		830
February		3,451
March		27,480
April		13,263
May		3,077
June		2,359
July		2,270
August		546
September		850

For this work plain agar-agar was mostly used. The samples were all collected in sterilized test tubes and a known quantity of the samples was taken out with a sterilized pipette and placed in melted agar-agar, and poured in Petri dishes. In the early work parallel peptone gelatin plates were poured, but as these did not differ essentially from the peptone agar-agar, the latter was used exclusively. The filter bed has been under observation for more than two years.

1) Bacteriological investigations of the Iowa State College Sewage. (Proc. Ia. Academy of Science 8. 240—261. Contr. I. S. C. 2.)

Tabulated Bacteriological Results 1901.

Date 1901		East and west effluent from	Temperature Fahr. Air °	Temperature Fahr. Water °	Manhole	Tank	Effluent
January	1	W. E.	22	38			385
,,	2	,, ,,	24	37			2580
,,	3	E. E.	34	36			5830
,,	4	,, ,,	32	38			2400
,,	4	Tank	32	51		75 000	
,,	4	Manhole	32	53	238 500		
,,	5	W. E.	33	38			Plates broken
,,	6	,, ,,	38	38			,, ,,
,,	7	E. E.	27	37			11 100
,,	8	W. E.	18	36			Plates broken
,,	8	Tank	18	49 1/2		Plates broken	
,,	8	Manhole	18	50	Plates broken		
,,	9	E. E.	16	36			6 360
,,	10	W. E.	19	35			22 200
,,	11	E. E.	22	37			850
,,	12	W. E.	14	36			47 400
,,	13	E. E.	17	36			3 330
,,	14	W. E.	45	36			10 240
,,	14	Tank	45	50		468 680	
,,	14	Manhole	45	55	172 080		
,,	15	W. E.	38	36			13 640
,,	16	,, ,,	24	36			10 300
,,	17	E. E.	9	36			5 760
,,	18	W. E.	18	36			6 730
,,	19	E. E.	14	36			1 366
,,	20	W. E.	53	36			4 480
,,	21	E. E.	36 1/2	36 1/2			4 100 6 523
,,	21	Tank	36 1/2	49 1/2		167 970 172 840	
,,	21	Manhole	36 1/2	51 1/2	179 260 255 233		
,,	22	W. E.	19	36			2 526 2 217
,,	23	E. E.	32	36 1/2			14 823 15 825
,,	24	W. E.	15 1/2	36			8 007 8 768
,,	25	E. E.	30	38			14 529 15 200
,,	26	W. E.	37 1/2	36			4 421 3 700
,,	27	E. E.	29 1/2	36 1/2			6 000 1 460
,,	28	W. E.	23	36			9 690 3 230
,,	28	Tank	23	48		18 200 57 600	
,,	28	Manhole	23	51	791 200 1 669 000		
,,	29	E. E.	24	36			10 080 20 160

Date 1901	East and west effluent from	Temperature Fahr. Air °	Temperature Fahr. Water °	Manhole	Tank	Effluent	Effluent	Effluent
January 30	E. E.	3	$35^1/_2$			14 400 10 766		
„ 31	W. E.	13	34			3 600 5 620		
February 1	E. E.	$13^1/_2$	35			13 860 12 600 12 600		
„ 2	„ „	21	$35^1/_2$			6 300 8 119 7 875		
„ 3	W. E.	23	35			6 400 11 340 11 970		
„ 4	E. E.	16	35			19 530 26 460 78 120		
„ 5	W. E.	20	34			7 530	13 230	14 490
„ 6	E. E.	27	36			3 800	7 680	17 600
„ 6	Tank	27	46		145 000 630 000			
„ 6	Manhole	27	49	1 544 000 1 627 000				
„ 7	W. E.	23	$34^1/_2$			500	2 095	3 460
„ 8	E. E.	23	35			5 197	12 600	17 010
„ 9	„ „	$-^1/_2$	35			2 400	26 460	29 290
„ 10	W. E.	19	35			7 650	8 500	8 240
„ 11	E. E.	$16^1/_2$	35			780	21 210	75 900
„ 11	Tank	$16^1/_2$	46		567 000 640 000 1 090 000			
„ 11	Manhole	$16^1/_2$	49	1 008 000 1 260 000 1 669 000				
„ 12	W. E.	$25^1/_2$	35			4 445	9 450	22 050
„ 13	E. E.	5	35			4 410	7 240	14 170
„ 14	W. E.	33	35			17 210	45 360	
„ 15	E. E.	$8^1/_2$	35			12 070	24 780	
„ 16	W. E.	37	36			17 580	21 580	24 100
„ 17	„ „	44	$36^1/_2$			7 140	19 530	26 770
„ 18	E. E.	$33^1/_2$	36			12 600	16 460	19 660
„ 19	W. E.	11	$35^1/_2$			15 120	10 710	22 900
„ 19	Tank	11	46		520 000 1 386 000			
„ 19	Manhole	11	49	869 400 4 237 000				
„ 20	W. E.	$6^1/_2$	36			16 690	17 640	25 800
„ 21	E. E.	16	$36^1/_2$			2 620	7 500	
„ 22	W. E.	$12^1/_2$	36			11 340	19 840	
„ 23	E. E.	$26^1/_2$	36			6 610	13 860	
„ 24	W. E.	$30^1/_2$	36			9 240	19 200	
„ 25	E. E.	$27^1/_2$	$35^1/_2$			13 860	23 810	48 600
„ 26	W. E.	$25^1/_2$	36			9 050	16 380	

Date 1901		East and west effluent from	Temperature Fahr. Air °	Temperature Fahr. Water °	Manhole	Tank	Effluent	Effluent	Effluent
February	26	Tank	25½	48		409 500 525 000			
„	26	Manhole	25½	51½	2 808 500 2 921 000				
„	27	E. E.	35½	34			35 910	36 190	49 140
„	28	W. E.	35	36			26 460	37 800	
March	1								
„	2	W. E.	41½	35			76 540	76 900	
„	3	E. E.	43½	39½			22 420	21 800	
„	4	W. E.	26½	37			3 900	4 000	
„	5	E. E	9	38½			50 400	82 000	
„	6	W. E.	30	37½			260	1 980	
„	7	E. E.	47½	37			2 600	13 700	
„	5	Tank	9	46		126 000 520 000			
„	5	Manhole	9	49½	356 000 830 000				
„	8	W. E.	35	37			4 500	9 800	
„	9	E. E.	31½	38			12 609	19 200	
„	10	W. E.	30	38			930	1 500	
„	11		Flooded						
„	26	W. E.	35	45			2 200	4 100	6 700
„	27	E. E.	34½	43			1 000	5 500	11 300
„	28	W. E.	41	44			100	600	800
„	28	Tank	41	48		246 000 385 000 450 000			
„	28	Manhole	41	49	87 000 385 000 690 000				
„	29	E. E.	34	42			4 100	4 300	5 700
„	30	W. E.	29	42			No development	200	400
„	31	E. E.	42	43½			300	1 900	3 600
April	1	W. E.	43	42			200	700	1 000
„	2	E. E.	40	43			3 000	20 000	21 800
„	3	W. E.	56	42			No development	900	1 500
„	4	E. E.	48	44			3 100	10 400	13 200
„	4	Tank	48	47½		65 000 220 800 330 000			
„	4	Manhole	48	49	80 000 350 000 354 000				
„	5	W. E.	36	46			1 300	1 700	2 500
„	6	W. E.	49	44½			700	2 600	3 700
„	7	E. E.	56	45			700	1 200	2 100
„	8	W. E.	57	46			1 200	3 100	4 300
„	9	E. E.	61	47			4 900	10 100	10 400
„	10	W. E.	52	48			3 000	3 800	6 800
„	11	E. E.	54	49			7 500	11 800	18 300
„	11	Tank	54	50½		258 000 477 000 660 000			

Date 1901	East and west effluent from	Temperature Fahr. Air °	Temperature Fahr. Water °	Manhole	Tank	Effluent	Effluent	Effluent
April 11	Manhole	54	51	498 000 774 000 840 000				
,, 12	W. E.	46	48 1/2			3 000	3 700	5 000
,, 13	E. E.	53	48			3 400	6 500	16 000
,, 14	W. E.	59	48			No development	4 600	7 100
,, 15	E. E.	47	47			700	1 600	2 400
,, 16	Flooded	Flooded						
,, 17	E. E.	40	49			700	1 300	2 000
,, 18	W. E.	51	48			200	1 000	1 000
,, 19	E. E.	40	47			4 400	4 500	10 000
,, 19	Tank	—	49		360 000 380 000 560 000			
,, 19	Manhole	—	51	820 000 1 410 000 2 100 000				
,, 20	W. E.	56	48			1 300	1 700	2 600
,, 21	E. E.	68	49			3 000	5 800	9 500
,, 22	W. E.	50	49			500	1 200	2 400
,, 23	E. E.	62 1/2	53			300	10 900	17 000
,, 24	W. E.	57	51			900	1 100	1 300
,, 25	E. E.	78	52			810	7 600	17 500
,, 25	Tank	78	52		410 000 900 000			
,, 25	Manhole	78	54	580 000 1 250 000				
,, 26	W. E.	69	54			1 500	2 700	6 300
,, 27	E. E.	77	56			1 700	2 100	2 300
,, 28	E. E.	84	59			24 000	20 000	25 000
,, 29	W. E.	75	58			100	210	600
,, 30	E. E.	88	59			3 000	3 400	
May 1	W. E.	77	57			1 700	2 450	20 000
,, 2	E. E.	88	61			8 000	17 000	25 000
,, 2	Tank	88	58		604 000 1 500 000 170 000			
,, 2	Manhole	88	57	30 000 140 000 250 000				
,, 3	W. E.	86	60			200	330	400
,, 4	E. E.	84	62			2 300	4 400	6 200
,, 5	W. E.	75	62			3 800	47 500	5 400
,, 6	E. E.	55	61			2 400	2 900	
,, 7	W. E.	53	60 1/2			15 500	41 000	22 000
,, 8	E. E.	54	59			1 500	3 000	3 000
,, 9	W. E.	66	59			5 500	7 200	8 700
,, 9	Tank	—	56		50 000 130 000 230 000			
,, 9	Manhole	—	56	530 000 2 300 000 2 600 000				

Date 1901	East and west effluent from	Temperature Fahr. Air °	Temperature Fahr. Water °	Manhole	Tank	Effluent	Effluent	Effluent
May 10	E. E.	63	58			600	18 000	10 000
„ 11	W. E.	62	58			500	1 700	1 800
„ 12	E. E.	53	59			126 000	159 000	167 000
„ 13	W. E.	54	$57^1/_2$			200	2 600	3 000
„ 14	E. E.	63	58			1 600	5 300	32 000
„ 15	W. E.	66	58			154 000		
„ 16	E. E.	$72^1/_2$	61			700	4 000	7 000
„ 16	Manhole	—	63	30 000 240 000 390 000				
„ 17	W. E.	Flooded						
„ 18	E. E.	77	60			1 400	3 900	3 100
„ 19	W. E.	68	65			2 700	23 000	24 000
„ 20	E. E.	67	67			520	4 900	
„ 21	W. E.	62	64			1 400	7 800	8 000
„ 22	E. E.	72	66			8 700	15 900	20 000
„ 23	W. E.	65	64			2 200	5 000	15 000
„ 23	Tank	—	58		100 000 740 000			
„ 23	Manhole	—	58	410 000 1 300 000				
„ 24	E. E.	—	—			7 000	13 000	15 000
„ 25	W. E.	55	62			3 600	14 000	21 000
„ 26	E. E.	62	63			1 500	3 300	3 800
„ 27	W. E.	67	62			3 000	900	1 400
„ 28	E. E.	68	62				161 000	
„ 29	W. E.	62	61			5 900	105 000	110 000
„ 30	E. E.	69	64			4 200	5 600	31 000
„ 30	Tank	—	58		110 000 410 000 370 000			
„ 30	Manhole	—	58	170 000 340 000 400 000				
„ 31	W. E.	68	62			900	3 300	4 100
June 1	E. E.	62	62			33 000	51 000	45 000
„ 2	W. E.	71	63			5 000	10 000	
„ 3	E. E.	65	$63^1/_2$			6 609	9 000	
„ 4	W. E.	$60^1/_2$	64			900	3 000	3 800
„ 5	E. E.	65	64			3 300	6 700	
„ 6	W. E.	66	67			3 200	10 100	
„ 6	Tank	—	60		130 000 580 000 1 050 000			
„ 6	Manhole	—	61	840 000 440 000 590 000				
„ 7	E. E.	52	$64^1/_2$			100	800	800
„ 8	W. E.	57	64			400	1 000	1 400
„ 9	E. E.	$58^1/_2$	64			1 000	4 200	5 300
„ 10	W. E.	79	64			200		
„ 11	E. E.	81	65			4 000	800	
„ 12	W. E.	73	66			5 100	4 200	
„ 13	E. E.	66	$66^1/_2$			2 300	68 000	8 600

Date 1901	East and west effluent from	Temperature Fahr. Air °	Temperature Fahr. Water °	Manhole	Tank	Effluent	Effluent	Effluent
June 14	E. E.	78	68					
,, 14	Tank	—	60		780 000			
,, 14	Manhole	—	61	840 000				
,, 15	W. E.	81	69			600	1 800	
,, 16	,, ,,	73	70			100	5 700	
,, 17	E. E.	73	70			16 000	20 000	
,, 18	,, ,,	74	70			700	2 000	2 000
,, 19	,, ,,	69	69			4 800		
,, 20	,, ,,	82	69		210 000			
,, 20	Tank	—	71		210 000			
,, 20	Manhole	—	69	260 000				
,, 21	E. E.	86	67½			24 000		
,, 22	W. E.	78	71			13 000		
,, 23	E. E.	89	69					
,, 24	W. E.	92½	57					
,, 25	,, ,,	95	56			14 500	9 000	
,, 26	,, ,,	98	57			700		
,, 27	,, ,,	99	56			18 000		
,, 28	,, ,,	86	76			6 500	20 000	
,, 28	Tank	—	65		800 000			
,, 28	Manhole	—	65	2 000 000				
,, 29	W. E.	71	76			5 500	6 200	
,, 30	E. E.	89	75			3 300	60 000	1 000
July 1	W. E.	90	74			7 700	7 000	8 400
,, 2	E. E.	78	73			1 000	1 400	1 600
,, 3	W. E.	80	74			1 600	8 000	3 700
,, 4	E. E.	86	73			72 000		
,, 5	,, ,,	78	72			7 600	35 500	
,, 5	Tank	—	65		100 000 900 000			
,, 5	Manhole	—	66	370 000 500 000 350 000				
,, 6	W. E.	81	76			192 000	40 000	
,, 7	,, ,,	68	73			42 000	36 000	
,, 8	E. E.	70	73			700	3 400	5 500
,, 9	,, ,,	90	72			23 000	35 000	
,, 10	,, ,,	93	72			21 000	16 000	7 500
,, 11	W. E.	84	78			47 000	40 000	25 000
,, 11	Manhole	—	65	1 520 000 1 750 000 750 000				
,, 11	Tank	—	69		1 470 000 2 200 000			
,, 12	E. E.	85	74			6 100 3 000 6 000	24 000 15 000 14 600	
,, 13	W. E.	90	74			1 400	1 100	5 200
,, 14	E. E.	95	74			2 400	3 000	2 000
,, 15	W. E.	91	72			3 200	4 800	
,, 16	E. E.	84	74			13 000	14 000	15 000
,, 17	,, ,,	86	76					
,, 18	,, ,,	84	76			18 000		

Date 1901	East and west effluent from	Temperature Fahr. Air °	Temperature Fahr. Water °	Manhole	Tank	Effluent	Effluent	Effluent
July 18	Manhole	—	68	670 000 620 000				
„ 18	Tank	—	70		620 000 840 000 890 000			
„ 19	E. E.	88	76			7 900	10 000	
„ 20	„ „	90	76			600		
„ 21	W. E.	101	78			1 700	2 500	
„ 22	E. E.	93	78			24 000	2 000	24 000
„ 23	„ „	85	75			1 000	1 800	1 700
„ 24	W. E.	92	79			24 000	25 000	12 000
„ 25	E. E.	98	78			700	900	
„ 25	Manhole	—	70	840 000 890 000				
„ 25	Tank	—	69		570 000			
„ 26								
„ 27	W. E.	83	79			1 000	900	1 200
„ 28	E. E.	82	79			27 000	16 000	24 000
„ 29	W. E.	78	77			4 300		
„ 30	No. E.	89	—					
„ 31		87	76					
Aug. 1	W. E.	83	78			4 300 5 000		
„ 1	Manhole	—	67	450 000 620 000 1 030 000				
„ 1	Tank	—	68		800 000 1 200 000 1 050 000			
„ 2	E. E.	90	78			7 000	18 200	
„ 3	„ „	64	74					
„ 4	W. E.	69	74			15 000		
„ 5	E. E.	82	74			21 000	3 600	
„ 6	„ „	74	76			13 000	20 000	
„ 7	W. E.	90	74			10 900		
„ 8	„ „	60	72			2 100	4 500	
„ 9	E. E.	68	73			3 800	5 200	
„ 9	Manhole	—	66	210 000 1 100 000				
„ 9	Tank	—	65		210 000 460 000			
„ 10	W. E.	70	74			500	500	
„ 11	E. E.	66	72			29 000	29 000	
„ 12	W. E.	74	73			11 000	15 000	
„ 13	E. E.	78	72			1 500	1 800	
„ 14	W. E.	74	74			3 300		
„ 15	E. E.	88	72			4 500	45 500	
„ 15	Manhole	—	68	50 000				
„ 15	Tank	—	70		150 000			
„ 16	W. E.	85	73			800	1 500	1 000
„ 17	E. E.	88	77			600	2 400	
„ 18	W. E.	90	74			1 200	2 300	2 000
„ 19	E. E.	78	78			1 600	5 100	12 000
„ 20	„ „	70	72			1 200	2 400	5 400

Date 1901	East and west effluent from	Temperature Fahr. Air °	Water °	Manhole	Tank	Effluent	Effluent	Effluent
Aug. 21	W. E.	82	74			1 500	2 300	13 200
,, 22	E. E.	80	73			800		
,, 22	Tank	—	65		3 400 000 7 600 000			
,, 22	Manhole	—	—	1 400 000 5 200 000				
,, 23	W. E.	72	75			200	10 900	3 000
,, 24	E. E.	79	71			1 700	17 650	
,, 25	,, ,,	67	64			12 500	50 000	56 200
,, 26	W. E.	75	75			31 000		
,, 27	E. E.	74	73			1 100	1 100	1 000
,, 28	,, ,,	79½	74			over grown		
,, 29	,, ,,	77½	74			1 100	4 500	
,, 29	Tank	—	—		840 000 600 000			
,, 29	Manhole	—	—	480 000 1 400 000				
,, 30	W. E.	70	73			10 700	64 000	60 000
,, 31	E. E.	68	72			19 000	33 000	
Sept. 1	W. E.	75	72			300	5 000	
,, 2	E. E.	79	71½			3 100	3 600	
,, 3	W. E.	68	73			4 300	10 200	
,, 4	E. E.	90	71			5 000	5 200	
,, 4	Tank	—	—		100 000			
,, 4	Manhole	—	—	470 000				
,, 5	E. E.	89	72½			4 900	1 300	
,, 6	W. E.	92½	63					
,, 7	,, ,,	82	72			50 000		
,, 8	,, ,,	60½	70½			40 000		
,, 9	E. E.	64	70					
,, 10	,, ,,	62	70			800	54 000	
,, 11	,, ,,	68	68				400	
,, 12	,, ,,	68	68			1 500	3 600	
,, 13	W. E.	68	62			5 500	3 500	
,, 14	E. E.	—	—			21 000	26 600	27 200
,, 15	W. E.	—	—			6 700	14 000	
,, 16	E. E.	—	—			4 400		
,, 17	W. E.	48	65			1 300		2 800
,, 18	E. E.	46	63			1 100	10 000	11 500
,, 19	W. E.	46	64			64 000	55 000	49 000
,, 20	E. E.	56	61			9 600	18 000	
,, 20	Tank	—	68					
,, 20	Manhole	—	67	810 000 2 200 000				
,, 21	E. E.	73	63			64 000		
,, 22	,, ,,	80	63					
,, 23	W. E.	72	63			61 000		
,, 24	E. E.	86	67			30 000	30 000	
,, 25		—	—					
,, 25	Tank	—	—		2 500 000 1 100 000			
,, 26	E. E.	78	67			10 500	13 500	
,, 27	,, ,,	77	68			13 600	17 000	
,, 27	Manhole	—	—	470 000 750 000				

Date 1901	East and west effluent from	Temperature Fahr. Air °	Water °	Manhole	Tank	Effluent	Effluent	Effluent
Sept. 28	W. E.	63	67			5 700	5 000	14 300
,, 29	E.	—	—			many		
,, 30	W. E.	52	67			28 000	13 000	
Oct. 1	,, ,,	64	66			120 000		
,, 2	,, ,,	44	64			1 200	2 400	2 000
,, 2	Manhole	—	63	{14 400 000 {15 600 000				
,, 2	Tank	—	65		{11 400 000 { 3 800 000			
,, 3	E. E.	44	65			700		
,, 4	W. E.	28	63			3 400	2 600	8 000
,, 5	,, ,,	28	63			2 400	4 100	3 700
,, 6	E. E.	37	63			200	1 200	1 200
,, 7	W. E.	56	63			1 000	6 800	
,, 8	E. E.	62	62			700	900	1 700
,, 9	W. E.	53	62			2 400	1 100	1 000
,, 9	Tank	—	—	{1 000 000 {1 600 000				
,, 9	Manhole	—	—		{1 200 000 {3 000 000			
,, 10	E. E.	41	62			5 500	17 000	
,, 11	W. E.	56	62			300	32 000	
,, 12	E. E.	52	62			73 000		
,, 13	W. E.	44	62			2 700	16 500	21 000
,, 14	E. E.	36	61			4 600		
,, 15	,, ,,	—	—			300	1 500	1 300
,, 16	W. E.	37	59			100	2 700	
,, 16	Tank	—	62					
,, 16	Manhole	—	61	{350 000 {400 000				
,, 17	E. E.	40	59			2 300	3 600	2 900
,, 18	,, ,,	38	58			14 000	66 000	100 000
,, 19	W. E.	68	59			100	600	
,, 20	,, ,,	44	56			1 200	1 600	
,, 21	,, ,,	68	59			21 600		
,, 22	,, ,,	38	58			5 600	7 000	6 800
,, 23	E. E.	44	59					
,, 24	W. E.	42	59			3 400	7 600	6 300
,, 25	E. E.	42	61			10 100	18 600	10 900
,, 26	W. E.	36	60			1 300	5 000	3 400
,, 26	Tank	—	63		{ 370 000 {1 500 000	370 000		
,, 26	Manhole	—	61	{310 000 {180 000				
,, 27	E. E.	37	60			400	25 000	
,, 28	W. E.	41	60			1 800	8 300	
,, 29	E. E.	61	60			19 000	25 000	
,, 30	W. E.	65	59			Lost		
,, 31	E. E.	56	59			4 200	17 000	
Nov. 1	W. E.	56	59			128 000	64 000	
,, 1	Tank	—	60		{3 000 000 {2 700 000			
,, 1	Manhole	—	60	108 000				
,, 2	E. E.	61	60				132 300	

Date 1901	East and west effluent from	Temperature Fahr. Air °	Temperature Fahr. Water °	Manhole	Tank	Effluent	Effluent	Effluent
Nov. 3	W. E.	27	59			12 000		
,, 4	E. E.	35	55			17 000	22 000	
,, 4	Tank	—	59		1 500 000 2 100 000			
,, 4	Manhole	—	61	1 400 000 2 060 000				
,, 5	W. E.	35	37			2 600	2 500	
,, 6	,, ,,	54	57			8 000	4 700	
,, 7	,, ,,	42	54			1 000	1 000	
,, 8	E. E.	45	55					
,, 9	,, ,,	58	56			60 000	55 000	
,, 10	W. E.	50	53			119 000		
,, 11	E. E.	46	53			19 600	14 000	
,, 11	Tank	—	61		1 600 000			
,, 11	Manhole	—	61	2 530 000 2 760 000				
,, 12	W. E.	55	54					
,, 13	,, ,,	54	54			10 700	16 000	27 000
,, 14	E. E.	46	53			15 000	90 000	36 000
,, 15	,, ,,	40	53			12 500	18 000	80 000
,, 16	,, ,,	42	51			15 000		
,, 17	W. E.	38	52			1 100		
,, 18	E. E.	38	48			14 600	20 700	
,, 19	W. E.	53	50			20 000		
,, 20	E. E.	53	48			3 500	4 400	3 400
,, 21	W. E.	54	48			25 000	21 000	
,, 21	Tank	—	60		300 000 2 000 000 1 620 000			
,, 21	Manhole	—	61	210 000 1 700 000 1 700 000				
,, 22	E. E.	38	49			32 500		
,, 23	W. E.	40	47			2 100	4 500	5 900
,, 24	E. E.	45	48			400		
,, 25	,, ,,	46	48			1 600		
,, 26	,, ,,	53	49			1 000	4 200	
,, 27	W. E.	50	46			35 700		
,, 28	E. E.	30	48			37 000	84 000	
,, 29	W. E.	38	48			100	700	1 000
,, 29	Tank	—	69		800 000 2 400 000 1 800 000			
,, 29	Manhole	—	68	1 700 000 1 100 000 1 350 000				
,, 30	W. E.	—	—			7 000	24 000	
December 7	,, ,,	32	43			19 000		
,, 7	Tank	—	58		144 000			
,, 7	Manhole	—	58	1 500 000				
,, 10	E. E.	30	41			30 000		
,, 10	Tank	—	56		1 900 000			
,, 10	Manhole	—	57	6 150 000				

The monthly averages of bacteria in the effluent of filter bed is shown in the following tables:

Year 1899.	Number of bacteria per cc.
January, 15 days	9 867
February, 3 days	3 450
March, 6 days	
April, 1 day	11 075
May, 27 days	8 965
June, 27 days	4 539
July, 31 days	2 538
August, 31 days	2 736
September, 30 days	3 693
October, 29 days	4 203
November, 26 days	2 925
December, 27 days	2 335
Average for eleven months	5 127

The average for nine months during the year 1900 is as follows:

January	830
February	3,450
March	20,480
April	13,263
May	3,077
June	2,359
July	2,270
August	546
September	850
Average for nine months	5,236

Year 1898	
September, 2 days	987,200
October, 12 days	104,725
November, 10 days	24,418
December, 4 days	21,440
Average for four months	284,445

The average number of bacteria per cubic centimeter from January to December, 1898, inclusive was 5,127. For the year 1900 the record is somewhat incomplete because of the unavoidable loss of the records in the fire. But from September, 1900, to January, 1901, inclusive, it was 5,414, having been as efficient as the previous season. The smallest number of bacteria occurring during the month of August, when there were 546. In January the average was 530, in September 1,850. The average number of bacteria for the manhole from August, 1899 to September, 1900 was 639,720. The average number of bacteria in tank during the same period was 446,611. From January 1st, 1901 to December 10th, 1901 the averages foot up as follows:

Manhole	Tank	Effluent
1,248,256	991,298	14,75C

In other words the record during the last year shows a somewhat higher number of bacteria in the effluent, but when these records are compared with the total number of bacteria found in the manhole and tank, the filtration is most efficient.

Species found in the effluent.

While we have not attempted to identify many of the species in the effluent, a few have been determined. Bacillus cloacae and B. coli communis have been found on several occasions. B. liquefaciens fluorescens is a common organism, and the B. mutabilis and Sarcina aurantiaca, S. lutea and S. ventriculi have also been found repeatedly. The accompanying plates show the character of the organisms found. Bacillus prodigiosus. The occurrence of this species in Ames was reported by the writer[1]) and Mr. Combs in 1896. It made its appearance in Ames after its introduction into the bacteriological laboratory. During the spring of 1900 the same species was found by the writer in Marshalltown sewage and taken to Ames where it was cultivated for some time. In cleaning the test tubes the species was poured into the drain which connects with the sewer. It was found three times; once in the tank on Juni 19 and twice in the effluent on June 22 in the east effluent and on June 26 in the west effluent. In each case only a single colony was found. Where the original B. prodigiosus came from in the Marshalltown sewage it was of course impossible for me to determine. It is certainly a significant fact that this species did not appear till the year 1900 after the Marshall town cultures were used in the laboratory. I believe that the species is not native to our flora. Jordan[2]) in commenting on this species says: „From what has been said above, it is clear that a very large percentage of the organisms of the sewage perish in the filters, during intermittent filtration. The question naturally arises, do any of the sewage organisms live to pass through, or are they all destroyed within the filters? those that are found in the effluent being accounted for as having come from the discharge pipes, under-drains, tank floors, etc., or from the air. The hygienic importance of this question is obvious, when we consider the extreme desirablity of removing all pathogenic germs from the sewage.

„This species has never been observed in the sewage or effluents, and is said not to exist native in this country. It is tolerably hardy, and owing to its exceedingly rapid growth upon gelatine, and its production of a bright-red color in well-developed colonies, is comparatively easy to recognize. Luxuriant vegetations of this species were prepared either in the usual „gelatine tubes“ or in the ordinary „bouillon and, after attaining the extraordinary development of which it is capable, so that a single cubic centimeter of the fluid contained millions of the individual germs, it was ready to be applied to the tanks. One two or liters of this fluid, swarming

---

1) Some notes on chromogenic bacteria. (Proc. Ia. Acad. Sci. Vol. III. p. 135. Contr. Bot. Dept. Ia. St. Coll. Agrl. Mech. Arts. Vol. I. p. 135.)
2) Exp. Invest. St. Brd. Health Mass. Purification of Sewage. 1888—1890. Part 2. p. 793, 850.

with the germs of Bacillus prodigiosus, were then added to the ordinary charge of sewage, for the larger tanks and thirty cubic centimeters or thereabouts, to that for the smaller tanks, after which the mixture was poured upon the surface. The smaller tanks of coarse mortar sand were first experimented with, and samples of the effluent were collected, beginning several hours after the application. From data obtained since that time it appears likely that these collections did not begin early enough to secure the largest discharge of germs." Its appearance again the present season in the effluent at Ames is interesting. Mr. Hunt first observed the species during the latter part of August, appearing in plates from the effluent till the first of October. During the season of 1900 Mr. Walker found it as early as June 19 in the tank and on June 27th in the effluent. There had been no cultures of this species in the laboratory during the present season; all of the old cultures, test tubes, were burned in December previous, so that its spread from that source cannot account for its presence this season. In all probability it has continued to propagate slowly in the tank, where it was found more than a year previous.

Culture media.

I had hoped to give the results of our work in the use of different media but unfortunately they were lost. In addition to the ordinary neutralized peptone agar-agar used Nährstoff Heyden, Blue Litmus agar-agar, Lactose agar-agar, Peptone gelatin, Lactose-gelatine, and Blue Litmus gelatine were used and compared. The results did not prove as I had hoped they would so much more favorable for Nährstoff Heyden although a greater number of colonies. developed. Lactose agar-agar and Lactose gelatine proved to be superior to it for gas producers. The Nährstoff Heyden is however a superior medium and much better than gelatin.

On the accompanying plate will be found a portion of the reccords of the Iowa State College Sewage Disposal Plant, from May 1st, 1900 to May 1st, 1901. This cut is loaned through the courtosy of Professor Marston and Miss Wilson who have published quite an extensive paper on the Sewage and Sewage Disposal Investigations[1]).

For the operation of the plant, the papers of Professor Marston and Miss Wilson as well as that by Mr. Walker[2]) and one by Marston, Weems and Pammel should be consulted[3]).

The chemical analyses made by Dr. Weems with the bacteriological results have been brought together in the paper quoted from Marston and Wilson in the following table.

---

1) Iowa Engineer Vol. I. p. 104—128. 3 Pl. Bull. Iowa State College Sewage and Sewage Disposal Investigations. 3.

2) Bacteriological investigations of the Iowa State College Sewage. (Iowa Acad. of Sc. 1901 p. 240—261. Bull. Iowa State College Sewage and Sew. Inv. 2.)

3) Iowa State College Sewage Disposal Plant and Investigations. Bull. No. 1. Proc. Iowa Engineering Society. 1900.

Fig. 1.

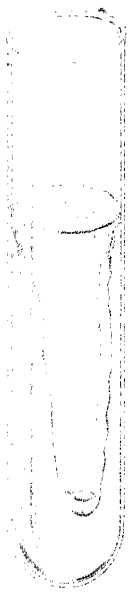


Fig. 2.

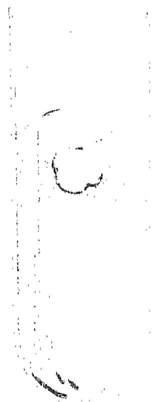


Fig. 3.

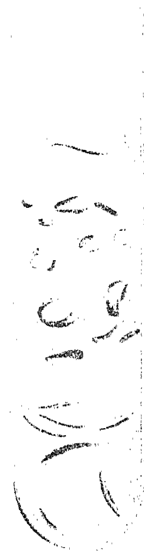


Fig. 6.



Fig. 4.

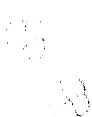


Fig. 5.



C. M. King gez. Verlag von Gustav Fischer, Jena. P. Weise, Lith., Jena.

Fig. 2.

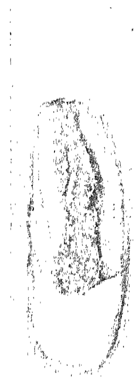


Fig. 1.

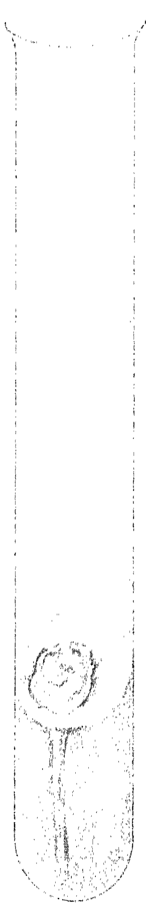


Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 6.

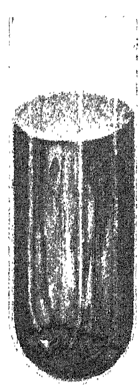


Fig. 5.



P. Weise Lith. Jena

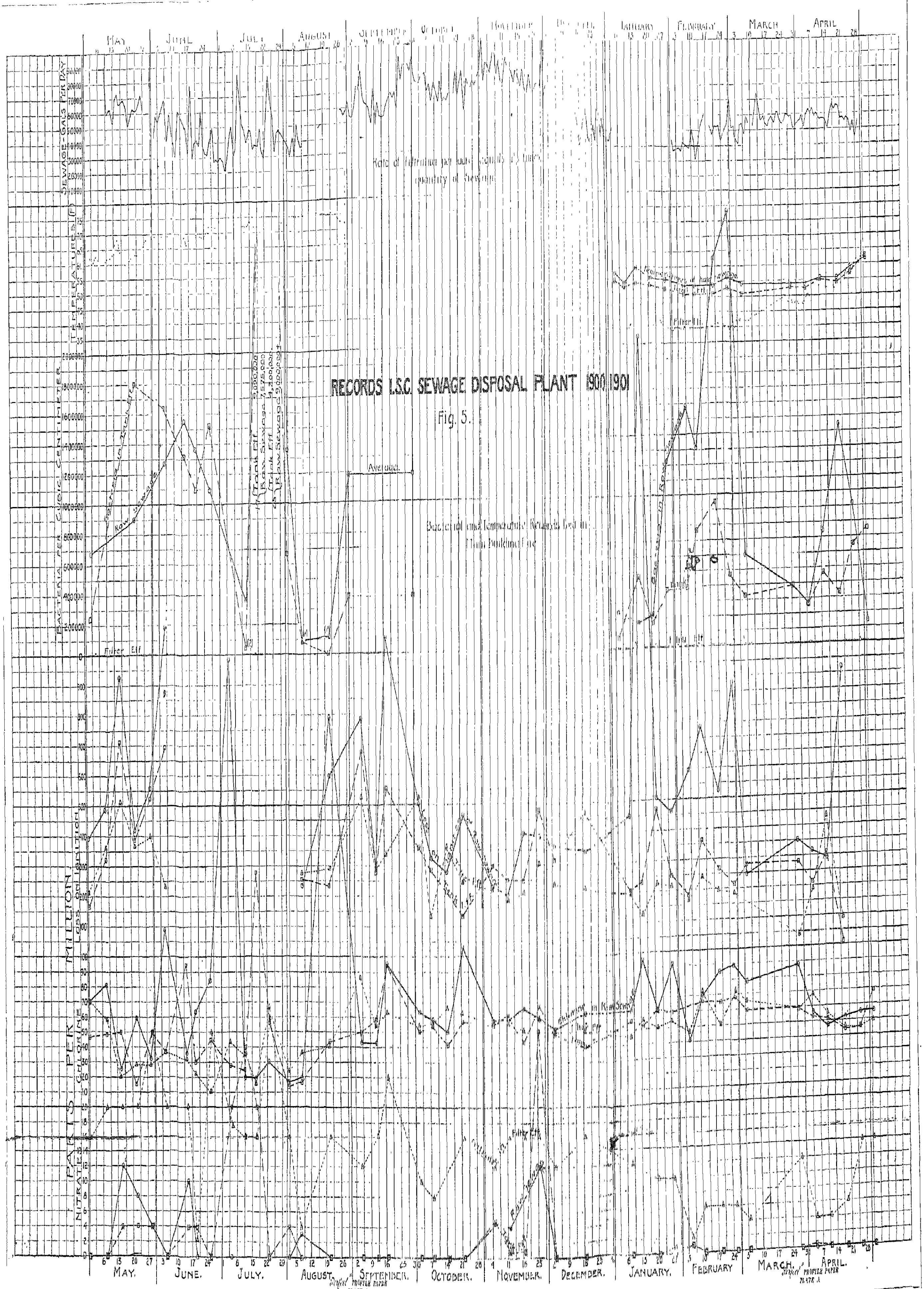
Average analyses of Iowa State College Sewage.
May 1, 1900, to May 1, 1901. Parts per Million.

Date	No. of Analyses	Chlorine	Solids on			Ammonia		Nitrogen as		Oxygen Cons'd		Bacteria
			Evaporation	At 180° C	Ignition	Al.	Free	Nitrites	Nitrates	15 Min.	4 Hours	Per c. c.
May 1 to June 13	6	64	1472	1299	824	17,6	36,6	0,4	4,0	29,5	44,2	965 000
June 13 to Aug. 28	9	90	—	—	—	11,2	4,3	0,6	3,9	18,9	29,6	2 744 000
Aug. 28 to Dec. 20	13	62	1627	1471	1197	11,1	16,8	0,6	1,6	10,5	21,6	Records burned
Dec. 20, 1900, to Feb. 12, 1901	5	70	2131	1990	1322	37,3	12,8	0,6	0,2	32,8	91,6	860 000
Feb. 12 to May 1	8	69	1651	1531	1165	17,1	18,7	0,1	0,0	25,7	38,7	1 248 000

A discussion of the general results are shown in the following quotations from the paper.

The records shown in diagrams are incomplete in places, there having been a serious fire at the college in December, 1900, in which many of the temperature and bacterial records were lost. The chemical analyses made by Dr. Weems perhaps the most significant results, as the albuminoid ammonia and the oxygen consumed are probably the best measures of the degree of pollution of sewage. Taking the albuminoid ammonia it will be seen that very high efficiency was uniformly attained in the operation of the plant. In the normal summer working of the plant as shown in May and June, 1900, the albuminoid ammonia in the raw sewage is reduced from about 18 parts to about 1—2 part per million. This shows an efficiency of about 97 per cent. In winter the efficiency is not so high, as is shown in a very interesting way in these results. The albuminoid ammonia, however, is still reduced from about 37 parts, December 20, to February 12, to less than two parts. This would represent an efficiency of about 95 per cent. The raw sewage during these months was abnormaly strong however, and the winter operation of the plant will be shown better by the results from February 12th to April ist. In this case the albuminoid ammonia was reduced from about 17 parts to about 2 parts per million, showing an efficiency of about 88 per cent. The diagram indicates that by May 1st the plant had nearly resumed its high summer efficiency.

„May and June, 1900, the oxygen consumption in four hours was reduced from about 44 to about 2 1—2 parts per million.


RECORDS I.S.C. SEWAGE DISPOSAL PLANT 1900-1901
Fig. 5.
Average.
SEWAGE GALS PER DAY
TEMPERATURE (F)
BACTERIA PER CUBIC CENTIMETER
PARTS PER MILLION
CHLORINE
NITRATES
Filter Eff.
Raw Sewage
Tank Eff.
May.
June.
July.
August.
September.
October.
November.
December.
January.
February
March.
April.

This shows an efficiency of about 94 per cent in the spring operation of the plant. Between December 20th and February 12th the oxygen consumed is reduced from about 92 to about 3 1—2 parts per million. This shows an efficiency of about 96 per cent, but the sewage during this period was abnormally strong, as has already been said. The regular winter working will be shown better by the results from February 12th to April 1st, during which time the oxygen consumed was reduced from about 39 to about 3 1—2 parts per million, showing a winter efficiency of about 91 per cent.

On Fig. 5 it will be seen that the nitrates, as might be expected, ran very high in the effluent during the summer months, showing that the organic matter in the sewage has been mainly disintegrated into harmless mineral compounds. We note here that the nitrates decrease during the winter months and increase again in the spring.

The chlorine determinations do not show any marked tendency to be any higher in one kind of sewage than in the other, or higher in the raw sewage than in the effluent.

Because the mineral matter in the water supply is so very high the total solids are very high and the loss on ignition does not apear to represent properly the purity or lack of purity of the sewage or effluent."

„When we come to the bacterial results it will be noted at once that all but an insignificant part of the bacteria are removed by the sewage disposal plant. In fact the degree of bacteriological purification usually ranges from 99 to 99.95 per cent. The temperature records are interesting so far as they extend, and fortunately the records for most of the winter were not lost.

„The guagings of flow show that the filter plant, under normal conditions, has been worked at the rate of about 100,000 gallons to 125,000 gallons per acre per day. Nevertheless, during a period of more than two months in the fall of 1900 the plant was operated at a rate averaging nearly 200,000 gallons per acre per day, and with exceedingly satisfactory results as to purification."

In connection with the records shown in Figs. 5 it should be remembered that the summer vacation extended from June 13th to August 28th, 1900, and the winter vacation from December 20, 1900 to February 12, 1901. It should also be remembered that the flow of sewage, as already stated, was abnormally high in the fall of 1900, and that in quality it was correspondingly weak. In fact, these records should be studied in connection with what has already been said regarding the quantity and quality of the Iowa State College Sewage."

One of the most interesting things to be studied on Fig. 5 is the effect of the tank. The albuminoid ammonia curves show that as a rule the tank effects a very material reduction in the fresh organic matter in the sewage; the free ammonia determinations show, on the other hand no marked tendency to reduction by the tank, whose office seems to be to start the process of decomposition, although it does effect a final disposal of part of the organic material. The oxygen consumption records also show on the

whole some reduction by the tank of the organic material in the sewage. The bacterial results show more fluctuation than might have been anticipated, but on the whole they also show a marked reduction of the bacteria in the raw sewage. Much better results might be expected with a septic tank originally designed to act as such. In such a tank the sludge chamber should be very greatly increased in size. Doubtless it should be as large as the flushing chamber. We might then expect to get rid of most of the expense of cleaning out the sludge, and also we might expect a further reduction of the organic material in the sewage by the tank. The effect of the tank upon the purification of the sewage is still more beneficial than is indicated by the bare records. In the process of making the chemical analyses it is found that the organic matter still remaining in the tank effluent is much more readily decomposed by the reagents so as to give off its albuminoid and free ammonia than is the case with the raw sewage. Hence we may conclude that the organic material still remaining in the tank effluent is thrown into forms much more readily purified by the filter beds."

The author is indebted to Profs. Marston, Wilsen and Weems for the use of figure 5 and the results of sonde of their work.

Explanation of the plates.

Plate I.

Figure 1. Sarcina aurantiaca, old culture, in gelatin.
Figure 2. Sarcina lutea.
Figure 3. Bacillus coli-communis from effluent.
Figure 4. Sarcina lutea $^1/_{16}$ Hom. immersion, and Griss compensating ocular.
Figure 5. Sarcina aurantiaca.
Figure 6. Sarcina aurantiaca agar culture $^1/_6$ Bausch & Lomb.

Plate II.

Figure 1. Sarcina lutea on agar.
Figure 2. Sarcina lutea on potals.
Figure 3. Sarcina aurantiaca on agar.
Figure 4. Number of colonies in effluent at the rate of 3000 per c. c.
Figure 5. Bacillus prodigiosus on potals.
Figure 6. Bacillus prodigiosus on agar.

Clostridium Pastorianum, seine Morphologie und seine Eigenschaften als Buttersäureferment.

Von Prof. Dr. **S. Winogradsky** in St. Petersburg.

Mit 1 Tafel und 1 Figur im Text.

(Schluß.)

Erster Versuch. Zwei Gärungskolben mit 2 Proz. Glykoselösung mit Kreide unter Zusatz von 0,5 Proz. Ammonsulfat einerseits, 0,5 Proz. Pepton andererseits. Mit reinen Clostridium Pastorianum-Sporen geimpft, beginnen beide nach 3 Tagen zu gären. Nach einem Monat, als zur Untersuchung geschritten wurde, enthält der Peptonkolben keine Spur von Zucker, der Ammonkolben

sehr geringe Mengen. Die Bestimmung der Alkohole und des Verhältnisses der flüchtigen Säuren ergab:

Im Ammonkolben:

Von Alkoholen im ganzen etwa $^1/_2$ ccm fast aus reinem Aethylalkohol bestehend.

$$\text{Verhältnis } \frac{b}{a} = 6{,}0.$$

Im Peptonkolben:

Von Alkoholen ganz unbedeutende Spuren.

Verhältnis $\frac{b}{a}$ = 23, d. h. fast reine Buttersäure, mit geringen Mengen von Essigsäure verunreinigt.

Fassen wir jetzt die Produktion von flüchtigen Säuren in den angeführten 4 Gärungsversuchen ins Auge: 1) Ohne gebundenen Stickstoff; 2) mit Spuren von Ammoniak; 3) mit bedeutender Ammoniakgabe; 4) mit Pepton, so bemerken wir, daß das Verhältnis $\frac{b}{a}$, also die Produktion der Buttersäure vom ersten bis zu dem vierten Falle sehr bedeutend zunimmt:

1.	2.	3.	4
2,6 : 1	4 : 1	6 : 1	23 : 1

Daraus schien der Schluß berechtigt, daß eine ergiebigere Stickstoffnahrung die Produktion von Buttersäure begünstigt, die der Essigsäure aber herabsetzt und umgekehrt. Um zu entscheiden, ob das in der That der Fall ist, wurde der folgende Versuch ausgeführt:

Zweiter Versuch. Drei 2-Liter Gärungskolben ganz mit 2-proz. Glykose-Nährlösung gefüllt, erhielten als Stickstoffnahrung, der 1. Ammonsulfat, der 2. Asgaragin, der 3. Pepton. Die Mengen dieser Substanzen wurden aber so berechnet, daß das Verhältnis von Stickstoff zu Zucker überall das gleiche wurde. Von dem Verhältnis: 0,5 Proz. Ammonsulfat zu 2 Proz. Zucker ausgehend, wobei der Ammonstickstoff sich zum Zucker wie 1 : 18,9 verhält, haben wir dieselbe Proportion für Asparagin und Pepton beibehalten. Der Stickstoffgehalt im Asparagin wurde nach der Formel berechnet, im Pepton bestimmt und gleich 16 Proz. gefunden. Wir hatten also im

1. Kolben	0,5	Proz.	Ammonsulfat
2. „	0,568	„	Asparagin
3. „	0,64	„	Pepton

Alle erhielten, wie gewöhnlich, Kreide in Ueberschuß. Im 3. verlief die Gärung sehr stürmisch und wurde nach 3 Wochen beendigt; im 2. nach etwa 7 Wochen; im 1. nach circa 10. Ueberall ging sie zu Ende und es blieben keine Spuren von Zucker zurück. Was die Produktion von Alkoholen und flüchtigen Säuren betrifft, so ergab die Analyse:

1. Kolben (Ammoniak).

5 ccm von einem Gemisch von Aethyl- und Butylalkohol.

$$\text{Verhältnis } \frac{b}{a} = 8.$$

2. Kolben (Asparagin)

etwa 0,5 ccm von Butylalkohol.

$$\text{Verhältnis } \frac{b}{a} = 4.$$

3. Kolben (Pepton).

Nur Spuren von Alkoholen.

$$\text{Verhältnis } \frac{b}{a} = 5.$$

Wie man sieht, hat sich der obige Schluß nicht bestätigt: Das Verhältnis der flüchtigen Säuren ist hier, wie auch sonst bei anderen Buttersäuregärungen, eine offenbar aus inneren Ursachen schwankende Größe, welche sich nicht vorausbestimmen läßt.

Was die Gärungsgase betrifft, so bestehen sie nur aus Kohlensäure und Wasserstoff. Das Mengenverhältnis dieser Gase zu verschiedenen Perioden der Gärung entspricht der ziemlich allgemeinen Regel, wonach am Anfange der Gärung der Kohlensäuregehalt am niedrigsten ist, während der Gärung stetig anwächst und zum Schlusse sein Maximum erreicht; umgekehrt zeigt der relative Wasserstoffgehalt gleich am Anfange sein Maximum, um im Verlaufe der Gärung stetig zu sinken. Daß aber innerhalb dieser Regel große Unterschiede bei sonst gleichen Bedingungen vorkommen, zeigen folgende Beispiele

		No. 1	No. 2	No. 3	
Anfang der Gärung	CO_2	11,0	15,5	46,1	Proz.
	H_2	89,3	84,5	54,1	„
Mitte „ „	CO_2	40,2	52,4	51,8	„
	H_2	59,8	47,6	48,5	„
Schluß „ „	CO_2	54,9	55,9	52,5	„
	H_2	45,1	44,1	47,8	„

Diese Zahlen beziehen sich auf drei Gärversuche in 1-proz. Dextroselösung. Die Kultur No. 1 erhielt dazu 0,25 Proz. Pepton, die 2. 0,25 Proz. Asparagin, die 3. wieder 0,25 Proz. Pepton. Alle wurden bei gleicher Temperatur gehalten und mit demselben Material geimpft; die Gase wurden in ungefähr gleichen Portionen gesammelt. Und doch schwanken bei No. 3 Maxima und Minima nur wenig um den Gleichheitspunkt, bei No. 1 und 2 dagegen sind die Unterschiede viel größer.

Obige Kultur No. 3 wurde einer vollständigen Analyse unterworfen, deren Resultate wir noch der Vollständigkeit wegen anführen:

$$\text{Verhältnis } \frac{b}{a} = 1{,}5$$

Essigsäure	0,3315
Buttersäure	0,7293
Zusammen	1,0608 g

oder 42 Proz. der angewandten Dextrose (2,55 g). Von Alkoholen unbedeutende Spuren. Keine nichtflüchtige Säuren.

Alle die angeführten Versuche führen zur folgenden Charakteristik von Clostridium Pastorianum als Gärungserreger:

1) Es kann nur Dextrose, Levulose, Rohrzucker, Inulin, Galaktose und Dextrin vergären und läßt zahlreiche gärbare Zucker-

arten und höhere Alkohole unberührt, gehört also zu den am wenigsten polyphagen Buttersäurefermenten.

2) Bei der von ihm hervorgerufenen Gärung wird Zucker fast ausschließlich unter Bildung von Buttersäure, Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff gespalten. Auf die Fettsäuren entfallen dabei 42 bis 45 Proz. des Zuckers, der Rest wird vergast. Als unbeständige Nebenprodukte treten geringe Mengen von verschiedenen Alkoholen und Spuren von Milchsäure auf.

So banal diese Charakteristik auch scheint, so genügt sie doch vollständig, um Clostridium Pastorianum als Gärungserreger von allen bekannten Buttersäurefermenten zu unterscheiden. Die meisten von ihnen sind nämlich imstande, auch Stärke, Laktose, Mannit, Glycerin, Calciumlaktat oder wenigstens einige von diesen Substanzen energisch zu vergären. Auch treten dabei meistens größere Mengen von Alkohol, besonders Butylalkohol auf; was alles wir mit Clostridium Pastorianum nie beobachtet haben. Da unsere Art auch morphologisch sich von allen anderen Buttersäurefermenten gut unterscheidet und da also kein Verdacht bezüglich ihrer Identität mit irgend einem von ihnen bestehen kann, so können wir von einem detaillierteren Vergleich Abstand nehmen.

In Bd. VII dieser Zeitschrift ist eine Abhandlung von Beijerinck „Ueber oligonitrophile Mikroben" erschienen, welche mich zu einigen Bemerkungen veranlaßt.

Oligonitrophil nennt Beijerinck „diejenigen Mikroben, welche .... sich in Nährmedien entwickeln, ohne absichtlich zugefügte Stickstoffverbindungen, aber auch ohne daß Fürsorge getroffen wird, um die letzten Spuren dieser Verbindungen zu entfernen". Dazu gehören nach Beijerinck das Clostridium Pastorianum und eine Reihe aërober Arten, mit welchen sich Beijerinck nun hauptsächlich beschäftigt.

Bezüglich des Clostridium Pastorianum begnügt sich Beijerinck mit einigen Bemerkungen, die meine Angaben in dem Sinne berichtigen sollen, daß 1) das Mikrobium nicht anaërob, sondern „mokroaërophil" sei, was von mir, meint er, übersehen wurde und 2) daß dasselbe entgegen meinen Angaben und ganz wie die übrigen „Oligonitrophilen" geringe Mengen von gebundenem Stickstoff brauche und sonst keine Entwickelung zeige. Spricht Beijerinck wirklich von der von mir als Clostridium Pastorianum bezeichneten Art und nicht von irgend einem anderen Buttersäureferment, so hat er Unrecht. Daß die Art in Reinkultur streng anaërob und durch unbegrenzte Zeit kultivierbar, ohne daß je die Aussaat mit Sauerstoff in Berührung kommt, ist in meiner ersten Arbeit unzweideutig genug bewiesen. Wenn man z. B. während mehrerer Monate ununterbrochen im Stickstoffstrome kultiviert und während der Zeit bis 20 „Passagen" (Ueberimpfungen) macht, so hat man doch das Recht, die Art für anaërob zu halten (vergl. den l. c. p. 37—39 beschriebenen Versuch). Ebenso deutlich ist von mir l. c. hervorgehoben worden, daß die Entwickelung von Clostridium Pastorianum stattfinden kann, auch wenn die größte Fürsorge getroffen wird, um die letzten Spuren von Stickstoffverbindungen

bestmöglichst zu entfernen. Unter anaëroben Bedingungen in Stickstoffatmosphäre geht das Wachstum leicht durch unbegrenzte Zeit im stickstofffreien Nährmedium; schwieriger geht es in aëroben Bedingungen in gemischter Kultur, da ja die Art anaërob und der schützenden Mitwirkung von Aëroben bedarf, welche aber ihrerseits des gebundenen Stickstoffes zu ihrer Entwickelung nicht entbehren können. Kein Wunder, daß die Anfänge schwierig sein müssen. Aber dennoch gelingt es, auch unter diesen Bedingungen Clostridium Pastorianum-Gärungen zu bekommen, worüber man l. c. p. 12—19 vergleiche, wo man die ausführliche Beschreibung und die Analyse von einem Dutzend solcher Kulturen findet. Ist alles das von Beijerinck etwa übersehen worden?

Es ist daselbst dann weiter p. 19—20 auch die Stickstoffgabe bestimmt worden, welche genügt, um in „strenger", d. h. stickstofffreier Lösung sicher Wachstum und Gärung zu bekommen, nämlich 2 mg Ammoniakstickstoff pro Kultur, oder etwa 1:100000 und nicht über 1:50000. Diese Proportion dürfte wohl der zahlenmäßige Ausdruck von Beijerinck's „Oligonitrophilie" sein. Was aber das Clostridium Pastorianum anbetrifft, so würde man es eher „anitrophil" nennen, wollte man Beijerinck's Terminologie weiter, gleichsam ad absurdum, entwickeln. Doch für meinen Teil würde ich vorziehen, dieselbe, besonders aber die Ausdrücke „mesonitrophil" und „polynitrophil", als willkürlich und wenig bezeichnend zu verwerfen.

Die kleine aërobe Bakterienflora, welche in zuckerhaltigen, stickstoffarmen Nährlösungen auftritt, ist mir seit 1893 bekannt. Sie entwickelt sich ganz konstant als Kahmhaut auf den abgegorenen Kulturen, tritt manchmal aber auch selbständig auf in den für Clostridium Pastorianum bestimmten, aber nicht gärenden Kulturen. Es gelang meistens ohne Mühe durch einfache mechanische Mittel, diese Arten von Clostridium Pastorianum zu trennen und aus einer Mutterkultur zwei Reihen — eine gärende und eine nicht gärende — herauszuzüchten. Abgesehen von 2 oder 3 sporenbildenden Bazillen, finde ich in meinen Tagebüchern beschrieben und abgebildet 1) einen „Sarcina-ähnlichen" oder „Chroococcus-ähnlichen" Organismus (beide Bezeichnungen werden gebraucht), als häufigste Erscheinung, welcher anfangs eine weißliche, etwas irisierende, schließlich braun werdende Membran bildet, 2) ein kurzes, dickliches Spirillum mit zugespitzten Enden, voll von stark lichtbrechenden Körnern, 3) große, etwas Clostridium-ähnliche, aber durch Jod nie blau werdende Kokken- oder Monadenformen. Alle diese Formen zogen meine Aufmerksamkeit auf sich in allen Böden, die ich untersuchte, sowohl in Petersburger und den südrussischen, wie auch im Pariser. Dieses ihr konstantes Auftreten unter Bedingungen, in welchen scheinbar nur gasförmigen Stickstoff assimilierende Arten gut gedeihen könnten, erweckte oft meinen Verdacht, ob sie sich nicht an dem Vorgange der Stickstoffassimilation beteiligen könnten. Da aber andererseits ihr Wachstum im Vergleiche mit Clostridium Pastorianum doch wenig imponierend erschien, da ich weiter schon eine Anzahl von Mikrobien kannte, die unter diesen Bedingungen zwar Wachstumserscheinungen, aber zweifel-

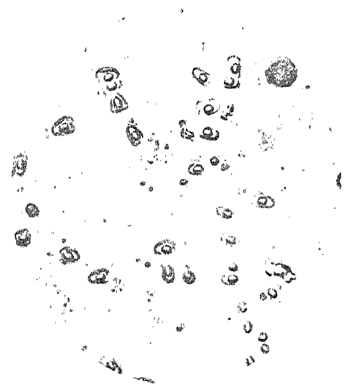
hafte Assimilationsfähigkeit dem atmosphärischen Stickstoff gegenüber zeigten, so habe ich ihnen kein weiteres Interesse geschenkt und keine Muße gefunden, sie näher zu untersuchen.

Es war mir nun interessant, zu erfahren, daß Beijerinck unter ähnlichen Bedingungen auch in Holland dieselben Organismen gefunden und daß er nicht unterlassen hat, sie näher zu untersuchen. Denn die oben unter 1) erwähnte Art ist sicher mit Beijerinck's Azotobacter Chroococcum identisch; auch die Spirillen mit dunklen Körnern erwähnt Beijerinck, und was die unter 3) erwähnte Gruppe betrifft, so dürften sie wohl zu „Azotobacter"-Arten gehören. Eine sichere Methode, diese Arten von Clostridium Pastorianum zu trennen, wird auch von Beijerinck gegeben, nämlich Glykose in der Nährlösung durch Mannit zu ersetzen. Wir wissen jetzt, daß Mannit von Clostridium Pastorianum nicht vergoren wird, und folglich ist sein Auftreten in Mannitlösungen fast ausgeschlossen. Entgegen den Angaben Beijerinck's, könnte sich dazu wahrscheinlich auch Laktose eignen, wie auch andere von Clostridium Pastorianum nicht vergärbare Substanzen, deren Aufzählung oben gegeben ist.

Obgleich wir nun, Dank Beijerinck, die genaue Charakteristik dieser Arten jetzt besitzen, bleibt doch immer der wichtigste Punkt noch unaufgeklärt, nämlich ob dieselben atmosphärischen Stickstoff assimilieren können oder nicht. Die bloße Thatsache ihres Vorkommens in stickstoffarmen Nährlösungen beweißt natürlich nichts. Viele Mikrobienarten haben ja ein so zähes Leben, daß sie sich unter den ungeeignetsten Bedingungen sehr lange erhalten können, wie ich besonders aus eigener Erfahrung gelegentlich meiner Untersuchungen über Nitrifikation und Stickstoffassimilation gesehen habe. Speziell in zuckerhaltigen, stickstoffarmen Nährlösungen können manche Arten nicht nur am Leben bleiben, sondern auch relativ auffallende Wachstumserscheinungen zur Schau bringen, die durch sehr ergiebige Schleimbildung charakterisiert sind; und doch lehrt schon die bloße mikroskopische Untersuchung, daß eine bedeutende Produktion von stickstoffhaltiger Substanz dabei kaum stattfindet, da man nur relativ wenige Zellchen in den voluminösen Schleimmassen sieht. Dieser Schluß wird auch durch die Analyse bestätigt: sie zeigt keinen oder ganz unbedeutenden Stickstoffgewinn. Man müßte also streng am Prinzipe festhalten, eine Assimilation von atmosphärischem Stickstoff nie zu behaupten, ohne den Schluß sofort durch genaue analytische Daten zu bekräftigen. Das thut Beijerinck nicht, und deshalb scheint mir vorläufig Reserve geboten gegen seine Aeußerung, womit er die „Oligonitrophilen" weiter charakterisiert: „Sie haben das Vermögen, den freien atmosphärischen Stickstoff binden und zu ihrer Ernährung verwenden zu können." Um diesen Schluß zu beurteilen, wäre es notwendig, Beijerinck's analytische Daten abzuwarten, die er zwar verspricht, aber nicht giebt. Bis auf weiteres sollte man denn nicht weiter gehen, Beijerinck's Oligonitrophile anders aufzufassen, als Organismen, die eben weniger gebundenen Stickstoff zu ihrem Wachstum erfordern, als das sonst gewöhnlich der Fall ist.

Petersburg, April 1902.

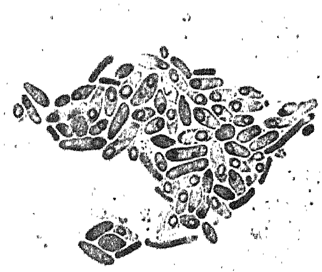




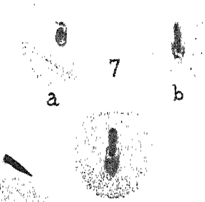
2.



3

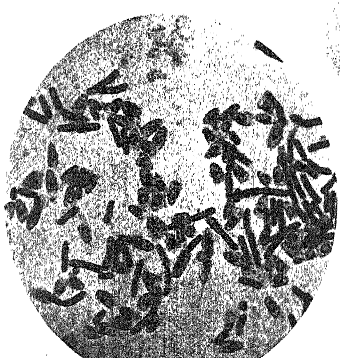


4.

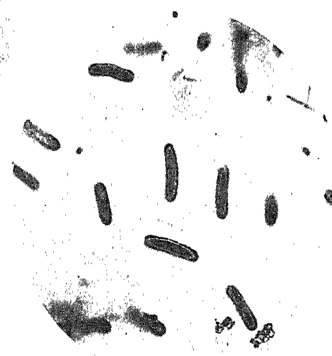


7

a b c



5.



6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Nachdruck verboten.

Kleinere Mitteilungen über Nitrifikationsmikroben.

[Aus dem Laboratorium von Prof. Dr. S. Winogradsky im Kaiserlichen Institute für experimentelle Medizin in St. Petersburg.]

Von **W. Omelianski.**

III.

Scheiden die Nitritmikroben eine Oxydase aus?

Die Forschungen der letzten Jahre haben das allgemeine Interesse auf die Frage von den Enzymen oder Diastasen gelenkt und diese neue Richtung hat in der Biologie bereits überaus wichtige Resultate ergeben. Wir kennen gegenwärtig schon eine ganze Reihe von Diastasen animalischer sowie vegetabilischer Herkunft, welche die verschiedenartigsten Funktionen beherrschen. Unter diesen bilden die oxydierenden Diastasen oder Oxydasen, deren nähere Kenntnis wir hauptsächlich den Untersuchungen von Gabriel Bertrand über die oxydierenden Diastasen des japanischen Lackes — die Lackase — verdanken, eine der interessantesten Gruppen.

Die Nitrifikationsorganismen bilden eine Gruppe von Mikroben mit besonders stark ausgeprägter oxydierender Fähigkeit, welche überdies in bemerkenswerter Weise spezialisiert ist in der Oxydation mineralischer Verbindungen — des Ammoniaks zu salpetriger Säure und der salpetrigen Säure zu Salpetersäure. Es erschien uns daher als eine Aufgabe von hohem wissenschaftlichem Interesse, den Mechanismus dieser so charakteristischen Oxydationsfähigkeit näher zu erforschen und zu bestimmen, ob dieselbe ausschließlich durch unmittelbare Einwirkung der lebenden Mikroben auf die oxydierbare Substanz sich abspiele oder auch außerhalb der lebenden Zelle durch Beteiligung eines von der letzteren ausgeschiedenen oxydierenden Enzyms, einer Oxydase, zu Stande kommen kann.

In den unten anzuführenden Versuchen habe ich mich vor der Hand darauf beschränkt, den Nitritbildner, dessen oxydierende Fähigkeit deutlich energischer ist als die des Nitratbildners in angedeuteter Hinsicht zu untersuchen. Das erste, was zu thun bevorstand, war die Gewinnung möglichst großer Mengen von gut arbeitenden und genügend reichen Kulturen. Die Nitrifikationsorganismen gehören überhaupt zur Zahl der sehr langsam wachsenden Mikroben, und daher war die Gewinnung großer Mengen derselben mit speziellen Schwierigkeiten verknüpft.

10 große Kolben nach Roux wurden mit je 1 l der gewöhnlichen Lösung für Kultur des Nitritbildners gefüllt:

Amm. sulf.	2	g
Natr. chlorat.	2	„
Kal. phosph.	1	„
Magn. sulf.	0,5	„
Ferr. sulf.	0,4	„
Aqua destill.	1000	„

Außerdem wurde jedem Kolben Magnesia im Ueberschusse hinzugefügt.

Die Kolben wurden am 7.—9. März 1900 reichlich geimpft. Anfangs standen die Kolben bei Zimmertemperatur, doch war trotz der reichlichen Impfung bis zum 28. April keine Nitrifikation bemerkbar. An diesem Tage wurden sämtliche Kolben in den Brutschrank bei 35° C hinübergebracht. Den weiteren Verlauf dieser Kulturen giebt die untenstehende Tabelle wieder, in welcher das Zeichen + das Verschwinden des Ammoniaks und zugleich den Zusatz von 1 g Ammonsulfat bedeutet. Den Kolben wurde von Zeit zu Zeit Magnesiumkarbonat zugesetzt, sobald dasselbe gelöst war.

der Kolben	Mai							Juni				Juli					August	September		
	4.	6.	13.	17.	21.	27.	31.	5.	12.	19.	26.	3.	10.	17.	24.	31.	23.	3.	10.	26.
1								+	+	+		+	+	+		+	+		+	+
2									+	+		+				+	+			+
3				+			+				+						+		+	
4				+			+			+					+		+		+	+
5		+	+		+		+		+		+			+		+	+	+		+
6		+	+		+		+		+	+		+	+	+			+	+		+
7			+			+			+				+		+		+		+	+
8	+		+		+		+		+	+				+		+	+		+	+
9		+	+			+			+		+			+		+	+	+		+
10		+	+		+			+			+		+				+		+	+

Am 26. September wurden die Versuche unterbrochen. Während dieser ganzen Zeit hatten die 10 Kulturen zusammen 100 g Ammonsulfat oxydiert. Bei der mikroskopischen Untersuchung erwiesen sich die Kulturen als überaus reich, obwohl ziemlich viele Involutionsformen angetroffen wurden, offenbar infolge der übermäßig langen Dauer des Versuches und der starken Konzentration der bei der Oxydation gebildeten salpetrigsauren Salze.

1. Versuch. Derselbe wurde zur vorläufigen Orientierung in der Frage unternommen, sowie auch zu dem Zwecke, um zu bestimmen, wo die Oxydase, wenn es überhaupt gelinge, eine solche zu finden, sich ansammeln würde — in der Flüssigkeit oder im Niederschlage.

Am 6. Oktober wurde ein Teil der Kultur No. 5 abfiltriert und das Filtrat und der Niederschlag getrennt auf die Anwesenheit einer Oxydase geprüft.

a) Das Filtrat. Es wurde eine Probe auf die Gegenwart einer Oxydase vermittelst Guajacatinktur angestellt, doch mit negativem Resultate. Dennoch wurde das Filtrat der weiteren Prüfung unterworfen.

In 10 kleine Erlenmeyer'sche Kölbchen wurden je 20 ccm des Filtrats gebracht, und zwar in 5 Kölbchen ohne Erwärmung, in die 5 anderen nach vorausgegangener Erwärmung des Filtrats bis 90° im Verlaufe von 30'. In jeden der 5 Kolben wurde dann in beiden Reihen die folgenden Mengen Ammonsulfats gebracht:

1—20 ccm} Lösung von $(NH_4)_2\ SO_4$ 1:50000
2—10 „ }

3—20 „ }
4—20 „ } Lösung von $(NH_4)_2\ SO_4$ 1:100000
5—10 „ }

Die Kölbchen blieben einen Tag lang bei Zimmertemperatur stehen und wurden sodann auf die Anwesenheit von Ammoniak geprüft. Die Prüfung geschah auf kolorimetrischem Wege in kleinen nebeneinander gestellten Cylindern. In sämtlichen Cylindern wurde bei der Nessler'schen Probe Gelbfärbung erhalten. Verglich man die Farbe, die in den mit erhitztem und mit nicht erhitztem Filtrat beschickten Cylindern auftrat, miteinander, so ließ sich in der Intensität derselben kein Unterschied wahrnehmen. Hätte die Flüssigkeit Oxydase enthalten, so wäre dieselbe im ersteren Falle offenbar durch die Erhitzung zerstört worden, es hätte keine Oxydation des Ammoniaks zustande kommen können und sein Gehalt hätte unverändert bleiben müssen; dagegen hätte im zweiten Falle das Ammoniak entweder ganz verschwinden (oxydiert werden) oder in seiner Menge reduziert sein müssen.

b) Der Niederschlag, welcher aus ungelöst gebliebener Magnesia und den Leibern der Mikroben bestand, wurde sorgfältig zuerst mit gewöhnlichem destilliertem Wasser und dann mit vollkommen ammoniakfreiem Wasser durch Dekantieren ausgewaschen. Da wir das Sediment nach Möglichkeit von den Salzen befreien wollten, wiederholten wir das Dekantieren viele Male; das Auswaschen dauerte mehrere Tage. Dann wurde der Niederschlag im Vakuum über Schwefelsäure bei 35° getrocknet und mit der gleichen Menge durchgeglühten und ausgewaschenen Seesandes verrieben.

In 8 kleine Erlenmeyer'sche Kölbchen wurden je 0,5 g des Gemisches von Sand und Niederschlag und 5 ccm reinen destillierten Wassers gebracht, wobei der Inhalt von 4 dieser Kölbchen 30' lang auf 100° erhitzt wurde. Dann gossen wir in jedes der 8 Kölbchen je 10 ccm einer Ammonsulfatlösung 1:100000 ein. Außerdem brachten wir noch in 4 Kölbchen (2 in jeder Reihe) je 2 Tropfen einer Sodalösung 1:5, in der Voraussetzung, daß eine schwach alkalische Reaktion, welche ja bekanntlich für den normalen Gang der Nitrifikation notwendig ist, die Wirkung der Oxydase begünstigen könne. 6 Kölbchen wurden bei 35°, 2 bei 55° während 20 Stunden gehalten.

Nach Verlauf dieser Zeit wurde der Inhalt der Kölbchen filtriert. Die Untersuchung der Filtrate mit Hilfe des Nessler'schen Reagens ließ keinen erkennbaren Unterschied im Ammoniakgehalte zwischen den erhitzten und den nicht erhitzten Flüssigkeiten merken. Eine etwas schwächere Färbung wurde nur in den Kölbchen erhalten, denen Soda zugesetzt war (in beiden Reihen), offenbar infolge der Verflüchtigung von Ammoniak.

Dieser Versuch ließ wenig Hoffnung auf einen positiven Erfolg aufkommen. Dessen ungeachtet gaben wir unser Vorhaben nicht auf, sondern bemühten uns, die Versuchsanordnung zu variieren. Es ließ sich glauben, der Mißerfolg dieser ersten Versuche könne

möglicherweise durch ein allzulanges Auswaschen des Sediments mit destilliertem Wasser bedingt sein. In dem nun folgenden Versuche bemühten wir uns, diesen Uebelstand zu beseitigen.

2. Versuch. Der Inhalt des Kolbens No. 6 wurde in ein hohes Becherglas gebracht, die abgestandene Flüssigkeit abgegossen und durch destilliertes Wasser ersetzt, der Niederschlag durchgerührt und sofort unter Absaugung durch ein geräumiges Filter gelassen. Darauf wurde der Niederschlag zweimal auf dem Filter gewaschen, im Vakuum über Schwefelsäure bei 35° getrocknet und mit der gleichen Menge durchgeglühten und ausgewaschenen Seesandes gut verrieben. Die Versuchsbedingungen und die Zusammensetzung der Flüssigkeit waren wie im 1. Versuche (siehe b. der Niederschlag).

Auch hier ergab die Nessler'sche Probe in den erhitzten wie in den nicht erhitzten Lösungen den gleichen Gehalt an Ammoniak.

3. Versuch. Aus den Kolben No. 1, 2, 3, 4, 8, 9 und 10 wurde der Niederschlag abfiltriert und schnell im Laufe von 2—3 Stunden mit Wasser ausgewaschen, dann im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und mit der vierfachen Menge reinen Sandes verrieben. In 4 kleine Erlenmeyer'sche Kölbchen brachten wir dann je 20 g der Mischung von Sand und Niederschlag, 20 ccm Wasser, 10 ccm Ammonsulfatlösung 1 : 100 000 und je 1 Tropfen Sodalösung 1 : 5. 2 dieser Kolben wurden nicht erhitzt, in den beiden anderen jedoch wurde die Flüssigkeit vor dem Zusetzen des Ammoniaks 30' lang auf 100° erhitzt. Die Kolben wurden in den Brutschrank bei 35° C gestellt.

Nach 2 Tagen wurde der Inhalt der Kölbchen filtriert und die Filtrate mit Nessler'schem Reagens auf ihren Ammoniakgehalt geprüft. Auch hier erhielten wir keinen Unterschied zwischen den erhitzten und den nicht erhitzten Flüssigkeiten.

Die negativen Resultate aller oben erwähnten Versuche könnte man noch dem Umstande zuschreiben, daß wir möglicherweise zu sehr abgearbeitete, degenerierte Kulturen des Nitritbildners zu den Versuchen verwandt hatten. Hierauf wies die Anwesenheit einer großen Zahl von schlecht färbbaren Involutionsformen hin. Daher verwandten wir für den 4. Versuch eine frische Kultur, die noch nicht lange gearbeitet hatte und zudem gerade auf der Höhe ihrer oxydierenden Thätigkeit sich befand.

4. Versuch. Der Kolbeninhalt wurde filtriert, der Niederschlag schnell mit physiologischer Kochsalzlösung ausgewaschen, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und mit dem gleichen Gewichte reinen Sandes verrieben. Die Anordnung des Versuches war genau dieselbe, wie im 3. Versuch. — Das Resultat war immer ein negatives.

Wir haben also auf der ganzen Linie Mißerfolg zu verzeichnen. Unter den beschriebenen Bedingungen ist es uns nicht gelungen, auch nur eine Spur einer aus den Zellen ausgeschiedenen Oxydase beim Nitritbildner nachzuweisen; die chemische Arbeit desselben scheint unseren Versuchen zufolge mit dem Leben der Zelle gleichsam zertrennunlich verbunden.

Indem wir dieses unmittelbare Resultat unserer Versuche

notieren, liegt es uns fern, demselben eine endgiltige Bedeutung beimessen zu wollen.

Wenn wir unsere Versuche veröffentlichen, so geschieht es nur, um den künftigen Arbeitern auf gleichem Gebiete die Mühe zu erleichtern; dieselben werden, wenn sie die Oxydase aus den Leibern des Nitritbildners abscheiden wollen, energischere Verfahren in Anwendung bringen müssen.

Zum Schlusse wollen wir einige Worte einer mit der bereits besprochenen verwandten Frage widmen. Die Untersuchungen von Gabriel Bertrand ließen einen engen Zusammenhang zwischen dem Grade der oxydierenden Wirkung der Lackase und ihrem Gehalte an Aschenbestandteilen, hauptsächlich an Mangan, erkennen. Diese Thatsache, daß an der oxydierenden Arbeit komplizierter organischer Verbindungen Schwermetalle, die mehrere Oxydationsstufen geben, teilnehmen, steht in der Wissenschaft nicht vereinzelt da: zur nämlichen Kategorie von Erscheinungen gehört offenbar auch die Rolle des Eisens in der oxydierenden Wirkung des Fermentes des Blutes — des Hämoglobins. Wir wissen bereits, daß ein Zusatz von Eisensalz die Arbeit der Nitrifikationsorganismen begünstigt. Es schien uns daher interessant, auch das Mangan in dieser Hinsicht zu prüfen. Wir wählten für die Versuche die Salze der Schwefel- und Milchsäure, welche wir den üblichen Nährböden für die Kultur der Nitrifikationsorganismen in einer Menge von 0,01 Proz., 0,02 Proz., 0,04 Proz. und 0,1 Proz. zusetzten, aber in keinem einzigen Falle übte dieser Zusatz auf den Nitrifikationsprozeß eine beschleunigende Wirkung aus. Hierzu muß ich allerdings bemerken, daß die komplizierte Zusammensetzung der Nährflüssigkeiten für die Nitrifikationsorganismen und vor allem ihre alkalische Reaktion es nicht gestatten, den Einfluß der verschiedenen Mangansalze zu studieren, da das Mangan in diesen Flüssigkeiten sofort als kohlensaures Salz herausfällt. Nach den Angaben Bertrand's jedoch konzentriert sich gerade das ganze Interesse um die Untersuchung der weniger beständigen Mangansalze der komplizierten organischen Säuren.

Ueber die Abhängigkeit der Assimilationsthätigkeit der Hefe von verschiedenen äusseren Einflüssen.

Von Prof. Dr. **Th. Bokorny** in München.

(Fortsetzung und Schluß.)

Nach 48-stündigem Stehen bei 20—25° war die Flüssigkeit noch nicht abgeklärt, Geschmack noch deutlich süß, Gärung noch im Gange. Unter dem Mikroskop erwies sich die Hefe als gesund, aber selten sprossend, fast lauter einzelne Zellen bildend, bakterienfrei.

Schon daraus, daß die Sprossung ausgeblieben war, ließ sich schließen, daß keine erhebliche Assimilation stattgefunden habe,

da ja die Hefe überschüssige Nahrung durch Bildung neuer Zellen zu verwerten pflegt.

Die Trockensubstanzbestimmung ergab aber sogar nur 0,15 g, also um 50 Proz. weniger als ursprünglich, was wohl daher kommen muß, daß die Hefe durch die Einwirkung 0,5-proz. freier Phosphorsäure abgestorben war und Trockensubstanz in die Flüssigkeit austreten ließ. Immerhin müssen doch noch einige Zellen der Hefe am Leben gewesen sein, weil eine Nährlösung, damit infiziert, binnen 4 Tagen bei 25° etwas Hefesatz aufwies.

Nach diesem Resultat ist auch von dem folgenden Versuch kein positives Ergebnis zu erwarten gewesen:

Versuch 4.

Aqua destillata	100	g
Rohrzucker	5	„
Fleischpepton	0,5	„
Monokaliphosphat	0,2	„
Bittersalz	0,1	„
Freie Phosphorsäure (H_3PO_4)	1	„
Hefe von 30,0 Proz. Trockensubstanz	1	„

Flüssigkeit schon nach 24-stündigem Stehen bei 20—25° geklärt; nach 48 Stunden noch stark süß schmeckend, ohne Gärung. Unter dem Mikroskop ließ sich nirgends Sprossung erkennen, die Hefezellen erschienen oft körnig (durch geronnenen Inhalt?). Bakterien nicht vorhanden.

Die Trockensubstanzbestimmung ergab ebenfalls 0,15 g, also eine Abnahme um 50 Proz.

Als die abfiltrierte Flüssigkeit mit Wasser stark verdünnt und mit Spur dieser Hefe (aus Versuch 4) noch weitere 4 Tage bei 25° stehen gelassen wurde, zeigte sich keine Vermehrung der Hefe, sie war also nicht mehr vermehrungsfähig.

Da bei Versuch 4 auch die Gärung unterblieb, so kann man daran denken, daß vielleicht nur der Mangel einer Energiequelle die Assimilation unmöglich gemacht habe. Dem widerspricht aber Versuch 3, mit nur 0,5 Proz. Phosphorsäure, wo die Gärung eintrat, die Assimilation aber trotzdem unterblieb. Das Assimilationsplasma ist also empfindlicher gegen Säuren als das Gärplasma.

Versuch 5.

Destilliertes Wasser	100	g
Rohrzucker	5	„
Fleischpepton	0,5	„
Monokaliphosphat	0,2	„
Bittersalz	0,1	„
Freie Milchsäure	0,5	„
Hefe von 30,0 Proz. Trockensubstanz	1	„

Nach 48 Stunden Flüssigkeit fast geklärt, kaum mehr süß schmeckend. Gärung nicht mehr vorhanden (wohl aber noch nach 24 Stunden). Unter dem Mikroskop bakterienfreie sprossende Hefe.

Die Trockensubstanzbestimmung ergab 0,48 g, also eine Vermehrung von 0,30 auf 0,48, d. i. um 60 Proz.

Da das Filtrat von der auf dem Filter gesammelten Hefe, nachdem von neuem etwas Rohrzucker zugesetzt worden war, bei 4-tägigem Stehen bei 25° unter Zusatz von Spur Versuchshefe aus dem Filter, von neuem Hefewachstum zeigte, so war die Hefe also durch den 2-tägigen Einfluß von 0,5 Proz. freier Milchsäure ihrer Vermehrungsfähigkeit nicht beraubt worden; das Sproßvermögen war ebenso erhalten geblieben wie das Assimilationsvermögen. Die Hefezellen zeigten nun aber eine entschiedene Neigung, zu langen Fäden anszuwachsen.

Versuch 6.

Destilliertes Wasser	100	g
Rohrzucker	5	„
Fleischpepton	0,5	„
Monokaliphosphat	0,2	„
Bittersalz	0,1	„
Freie Milchsäure	1	„
Hefe von 30,0 Proz. Trockensubstanz	1	„

Nach 48-stündigem Stehen bei 20—25° war die Flüssigkeit noch nicht klar geworden, etwas Gärung noch vorhanden. Unter dem Mikroskop zeigte sich die Hefe bakterienfrei, viele Zellen waren in Sprossung.

Die Trockensubstanz betrug nur 0,37 g; die Trockensubstanzzunahme also 23 Proz.

1 Proz. Milchsäure wirkt also noch schädlicher auf die Assimilationsthätigkeit der Hefe als 0,5 Proz., unterdrückt dieselbe aber nicht ganz, sie wird nur verlangsamt, das Assimilationsplasma nicht abgetötet.

Da die Vergärung des Rohrzuckers die Spaltung in 2 Moleküle voraussetzt, so geht aus obigem Versuch auch hervor, daß die Invertase durch 1 Proz., Milchsäure binnen 2 Tagen nicht unwirksam gemacht wird; sie ist ja überhaupt ein sehr widerstandsfähiges Enzym. Ferner ist klar, daß das Gärungsplasma durch soviel freie Milchsäure nicht sehr stark behindert wird. Die sprossenden Zellen weisen daraufhin, daß nicht einmal das Vermehrungsplasma ganz abgetötet wird durch 1 Proz. Milchsäure.

Versuch 7.

Destilliertes Wasser	100	g
Rohrzucker	5	„
Fleischpepton	0,5	„
Monokaliphosphat	0,2	„
Bittersalz	0,1	„
Freie Milchsäure	0,1	„
Hefe von 30,0 Proz. Trockensubstanz	1	„

Daß diese geringe Menge freier Milchsäure die Assimilationsthätigkeit der Hefe nicht stark beeinträchtigen werde, ließ sich voraussehen.

Es ergab sich nach 2-tägiger Versuchsdauer, daß die Hefe-Trockensubstanz von 0,30 g auf 0,48 g zugenommen hatte, also um 60 Proz.

Die Gärung war nach 2 Tagen beendigt, die Flüssigkeit geklärt.

Die Nährflüssigkeit, welche natürlich noch unverbrauchtes Pepton enthielt, wie auch die Salze zum Teil, wurde nun nochmals mit etwas Rohrzucker und dann mit Spur Hefe vom Filter versetzt. Es wuchs dann binnen 4 Tagen von neuem etwas Hefe, freilich daneben auch Bakterien.

Diese letzteren stellten sich auch sehr reichlich bei folgendem Versuche, wo die Milchsäuremenge 0,25 Proz. betrug, ein, als das Filtrat einige Tage stehen gelassen wurde. Bei 0,1 oder 0,25 Proz. Milchsäure im Nährsubstrat sind also die Bakterien bald stärker wie die Hefe.

Versuch 8.

Destilliertes Wasser	100	g
Rohrzucker	5	"
Fleischpepton	0,5	"
Monokaliphosphat	0,2	"
Bittersalz	0,1	"
Freie Milchsäure	0,25	"
Hefe von 30,0 Proz. Trockensubstanz	1	"

Die Trockensubstanzbestimmung ergab nach 2 Tagen 0,40 g. Eine Vermehrung von 0,30 auf 0,40, also um 33 Proz., war eingetreten.

Es ergiebt sich aus den vorstehenden 4 Versuchen, daß die Milchsäure ziemlich erheblich schwächer schädigend auf das Assimilationsplasma wirkt als die Phosphorsäure, welche bei 0,5 Proz. schon alle Assimilation unmöglich macht, ja die Hefezelle tötet.

Da die Milchsäure eine beträchtlich schwächere Säure ist als die Phosphorsäure und die Acidität der Zelle schadet, so hängt das beobachtete Verhalten wohl mit diesem Punkt zusammen.

Fast ganz ebenso schädlich wie freie Phosphorsäure scheint aber die Weinsäure zu sein, die nun allerdings zu den stärkeren organischen Säuren gehört. Folgendes einige Versuche hierüber:

Versuch 9.

Destilliertes Wasser	100	g
Rohrzucker	5	"
Fleischpepton	0,5	"
Monokaliumphosphat	0,2	"
Bittersalz	0,1	"
Freie Weinsäure	0,25	"
Hefe von 30,0 Proz. Trockensubstanz	1	"

Flüssigkeit nach 48 Stunden klar (nach 24 Stunden noch nicht) Geschmack nicht mehr merklich süß. Unter dem Mikroskop zeigte sich die Hefe als in Sprossung begriffen, frei von Bakterien.

Die Trockensubstanzbestimmung ergab 0,38 g, also eine Vermehrung von 0,30 auf 0,38, das ist um 26,66 Proz. (ohne freie Weinsäure um 150 Proz.!)

0,25 Proz. Weinsäure schädigt, wie aus Obigem hervorgeht, die Assimilationsthätigkeit ziemlich erheblich.

Daß die Hefe, welche 2 Tage lang in der 0,25 Proz. freie Weinsäure haltenden Nährlösung gewesen war, noch lebend und

vermehrungsfähig war, zeigte mir ein Versuch mit dem Filtrat. Letzterem wurde eine Spur der in Versuch 9 verwendeten schließlich auf dem Filter gesammelten Hefe zugesetzt; nach 4-tägigem Stehen bei 25° hatte sich ein starker Satz gebildet, etwas Gärung war eingetreten. Der Satz, welcher sich gebildet hatte, bestand aus Bierhefe, die zum Teil in lange Fäden ausgewachsen schien.

Versuch 10.

Destilliertes Wasser	100	g
Rohrzucker	5	„
Fleischpepton	0,5	„
Monokaliumphosphat	0,2	„
Bittersalz	0,1	„
Freie Weinsäure	0,5	„
Hefe von 30,0 Proz. Trockensubstanz	1	„

Flüssigkeit nach 48 Stunden klar (nach 24 Stunden noch nicht). Geschmack kaum noch süß. Gärung nicht mehr im Gang. Unter dem Mikroskop zeigt sich bakterienfreie, nicht sprossende Hefe; sie wurde auf einem Filter gesammelt.

Beim weiteren 4 Tage langen Stehen des Filtrates unter Zusatz einer Spur Versuchshefe aus Versuch 10 trat, trotzdem die günstigste Temperatur (25°) herrschte, kein Hefewachstum ein.

Die Trockensubstanzbestimmung ergab 0,26 g, also eine Abnahme um 14,4 Proz. Assimilation war somit nicht eingetreten, vielmehr ein Verlust an Substanz, der sich durch das Absterben eines Teiles der Hefe erklären läßt. Aus absterbenden Zellen tritt immer Trockensubstanz in die umgebende Flüssigkeit aus.

Da in den beiden Weinsäureversuchen die Gärung reichlich eingetreten war, so kann man nicht sagen, daß es an einer Energiequelle für die Assimilation gemangelt habe; es bleibt vielmehr nur die eine Erklärung übrig, daß die freie Säure das Assimilationsplasma geschädigt beziehungsweise abgetötet habe.

In Versuch 9 war das Assimilationsplasma durch 0,25 Proz. Weinsäure nur geschwächt, in Versuch 10 durch 0,5 Proz. Weinsäure ganz abgetötet worden.

Versuch 11.

Destilliertes Wasser	100	g	
Rohrzucker	5	„	d. i. 5 Proz.
Fleischpepton	0,5	„	
Monokaliphosphat	0,2	„	
Bittersalz	0,1	„	
Freie Salzsäure	0,1	„	
Hefe von 30,0 Proz. Trockensubstanz	1	„	

Da die freie Mineralsäure hier nur 0,1 Proz. betrug, so erwartete ich eine ziemlich erhebliche Assimilation, wenn auch die volle Größe der Assimilation nicht erreicht wurde. Zu meinem Erstaunen ergab die Trockensubstanzbestimmung nur 0,25 g, also einen Trockensubstanzverlust von 16,6 Proz. Dabei war die Gärung reichlich eingetreten, an Energie für die Assimilationsleistung fehlte es also nicht.

Warum die Salzsäure stärker giftig für das Assimilationsplasma ist als etwa die Schwefelsäure oder Phosphorsäure, läßt sich nicht sagen.

Versuch 12.

Alles wie vorhin, aber
Freie Salzsäure 0,25 g

Die Trockensubstanzbestimmung ergab 0,22 g, also einen Trockensubstanzverlust von 26,6 Proz.

Die Gärung trat ziemlich schwach ein, immerhin war sie da; es hätte also Assimilation stattfinden können, wenn das Plasma nicht getötet gewesen wäre.

Versuch 13.

Alles wie vorhin, aber
Freie Salzsäure 0,5 g

Hier trat natürlich auch Trockensubstanzverlust ein, weil die Zellen abstarben und Trockensubstanz austrat.

Versuch 13 würde überhaupt nicht aufgestellt worden sein, wenn ich das Resultat von Versuch 11 und 12 vorausgewußt hätte.

Von den Halogensäuren prüfte ich noch die Flußsäure und deren Salz Fluornatrium, welche in der Gärungsindustrie nebst den Fluoriden der Alkalimetalle durch Effront zur Bekämpfung der Bakterien im Hefegut eingeführt worden ist. Dieselbe kann nur in starken Verdünnungen angewendet werden, da sie ein heftiges Gift ist, noch mehr als die Fluoride.

Nach O. Loew sterben verschiedene Algen, wie Oscillaria, Cladophora, Oedogonium, Diatomeen, ebenso Blätter von Wasserpflanzen (Trapa, Elodea, Vallisneria) binnen 24 Stunden ab, wenn 0,2 Proz. Fluornatrium einwirkt. Freie Flußsäure wirkt noch stärker. Mit 0,5 Proz. Fluornatrium zeigt sich bei Spirogyra schon binnen 1 Stunde eine Veränderung des Zellkernes, teils verquillt er, teils wird er kontrahiert; nachher kommen Verquellungserscheinungen des Chlorophyllkörpers.

Auf niedere Pilze übt Fluornatrium eine hemmende Wirkung aus.

Versuch 14.

Alles wie oben (bei Versuch 11), aber statt Salzsäure
Freie Flußsäure 0,1 g, d. i, 0,1 Proz.

Es zeigte sich kurze Zeit nach Zugabe der Flußsäure (vor dem Hefezusatz) eine schwache Trübung, welche wohl durch Ausscheidungen von etwas Fluormagnesium bedingt war.

Trotzdem somit die Flußsäure etwas verringert war und weniger als 0,1 Proz. betrug, so trat doch keine Assimilation ein, sondern ein Trockensubstanzverlust von 33 Proz.; die Bestimmung ergab nur 0,20 g.

Versuch 15.

Alles wie oben, aber
Freie Flußsäure 0,25 g, d. i. 0,25 Proz.

Auch hier trat, wie zu vermuten war, Trockensubstanzverlust ein; die Trockensubstanzbestimmung ergab ebenfalls nur 0,20 g.

Die freie Flußsäure ist also für die Hefezelle und speziell für das Assimilationsplasma derselben ebenfalls ein heftiges Gift.

Um nun doch vielleicht ein positives Resultat zu erhalten, versuchte ich noch die 10-fache Verdünnung der freien Flußsäure, nämlich 0,01 Proz. und machte damit einen ähnlichen Versuch wie der in der Einleitung erwähnte Versuch E, der sich von dem Versuch 16 nur dadurch unterscheidet, daß die Konzentration des Zuckers dort 20 Proz. betrug, während hier nur 5 Proz. Zucker zur Nährlösung angewandt wurde.

Versuch 16.

Destilliertes Wasser etc.,
alles wie bei Versuch 11, aber statt Salzsäure
Freie Flußsäure 0,01 g, d. i. 0,01 Proz.

Nach 24 Stunden Flüssigkeit noch in Gärung, nicht ganz geklärt; nach 40 Stunden keine Gärung mehr zu bemerken. Die Trockensubstanzbestimmung ergab 0,25 g Tr.S. Also war die Trockensubstanz um 19,3 Proz. zurückgegangen. Auch bei Anwesenheit so geringer Mengen freier Flußsäure kann also keine Assimilation stattfinden.

Fluornatrium wurde nur in einem Versuch von mir probiert, um seine Schädlichkeit für den Assimilationsvorgang zu ermessen; aber bei der angewandten Konzentration 0,2 Proz. Fluornatrium ergab sich ein so erheblicher chemischer Niederschlag (von Fluormagnesium!), daß ich davon abstand, der Sache weiter nachzugehen. Denn erstens wäre die Konzentration des Fluornatriums dann nicht bekannt gewesen, zweitens würde die Trockensubstanz durch den genannten Niederschlag um einen unbekannten Betrag vermehrt gewesen sein.

Zum Schluß seien noch einige Versuche erwähnt mit Alkohol und mit Kupfersalz, zwei praktisch wichtige, giftige Stoffe, deren Schädlichkeit für die Assimilationsthätigkeit einmal geprüft werden sollte.

Versuch 17.

Nähr- und Gärlösung wie bisher.

Als fremde Substanz Alkohol in der Stärke 20 Proz., der aber hier schon vorher 2 Tage lang auf die Hefe einwirken gelassen, dann entfernt wurde. Angewandte Hefemenge 4,4 g von 28,8 Proz. Trockensubstanz.

Temperatur 15—20°, Versuchsdauer 2 Tage.

Durch 20-proz. Alkohol waren die Hefezellen, als sie 2 Tage lang seiner Einwirkung ausgesetzt waren, mikroskopisch verändert, der Inhalt granuliert. Als eine Spur der Versuchshefe mit einigen Tropfen Zuckerlösung angesetzt wurde, zeigte sich, daß die Hefe nicht mehr die Fähigkeit zu sprossen und sich zu vermehren hatte.

Die Trockensubstanzbestimmung der auf einem Filter gesammelten und ausgewaschenen Hefe ergab 1,15 g, d. h. 26,13 Proz. Die Trockensubstanz war also von 28,8 auf 26,13 zurückgegangen, infolge fortschreitenden Austrittes von Substanz aus der Alkoholhefe. Assimilation keine.

Versuch 18.

Nähr- und Gärlösung wie bisher.

Hefe 2 Tage zuvor in 10-proz. Alkohol gewesen, dann dieser abgegossen.

Angewandte Hefe 3,4 g von 27,6 Proz. Trockensubstanz.

Temperatur 15—20°, Versuchsdauer 2 Tage.

Durch 10-proz. Alkohol schienen mir die Hefezellen nach 2 Tagen ziemlich stark verändert zu sein. Der Protoplasmainhalt erschien eingeschrumpft, stark lichtbrechend, die Zelle größtenteils von der Vakuole ausgefüllt. Eine Spur dieser Hefe wurde dann in einige Tropfen Zuckerlösung gebracht und 2 Tage lang beobachtet. Es zeigte sich kein Leben in der Hefe, keine einzige Zelle wies unter dem Mikroskop Sprossung auf, der Inhalt war geronnen.

Die Hefe wurde wie immer auf einem Filter gesammelt, gewaschen, dann getrocknet. Es ergab sich 0,92 g Trockensubstanz, d. i. 27,1 Proz. Trockensubstanz. Rückgang der Tr.S. von 27,6 Proz. auf 27,1 Proz. Assimilation keine.

Versuch 19.

Nähr- und Gärlösung wie bisher.

Hefe 2 Tage in 5-proz. Alkohol gelegen, dann letzterer abgegossen.

Angewandte Hefe 3,3 g von 25,6 Proz. Trockensubstanz.

Temperatur 15—20°.

Durch 5-proz. Alkohol wird bei 2-tägiger Einwirkung das Protoplasma der Hefezelle auch etwas kontrahiert, stärker lichtbrechend; die Vakuolen entsprechend größer. Eine Spur dieser Hefe, mit einigen Tropfen Zuckerlösung angesetzt, verlor zwar die stark lichtbrechende Eigenschaft des Zellprotoplasmas wieder, offenbar in dem Wasser aufgenommen wurde, aber Sprossung sah ich nicht eintreten.

Die Trockensubstanzbestimmung nach 2-tägiger Versuchsdauer ergab 0,97 g Tr.S., d. i. 25,6 Proz. Die Trockensubstanz war also genau gleichgeblieben. Assimilation hatte keine stattgefunden.

Durch 2-tägigen Aufenthalt in 20-, 10- und 5-proz. Alkohol war also das Assimilationsvermögen der Hefe geschädigt, ja vernichtet worden.

Versuch 20.

Nähr- und Gärlösung wie bisher.

Die Versuchshefe wurde in 100 ccm 0,01 Proz. Kupfervitriol enthaltender Nährlösung gebracht.

Angewandte Hefe 1 g von 0,31 Proz. Trockensubstanzgehalt.

Kupfervitriol ist bekanntlich ein starkes Gift für lebende Organismen.

„In Kupfervitriollösung von 1:20000 wird die Alge Cladophora binnen 6 Stunden stark geschädigt, desgleichen Infusorien; nach weiteren 24 Stunden waren alle Organismen in der Lösung abgestorben. Sogar eine Lösung von 1:50000 tötete binnen 2 Tagen sämtliche Organismen, die zum Versuche angewandt worden waren, Cladophora, Spirogyra, Conferva, Vau-

cheria, Infusorien, Rädertierchen, Würmer, Insektenlarven. In einer Lösung 1:200000 blieben einige Algen und Tiere 24 Stunden lang am Leben, andere starben ab." (Verf. in Pflüger's Arch. Bd. LXIV. p. 271.)

Demnach war bei diesem Versuch keine starke Assimilationsthätigkeit zu erwarten, wenn auch vielleicht die Hefe etwas widerstandsfähiger sein könnte gegen Kupfersalz als jene Algen und kleinen Tiere.

Faktisch ergab sich nach 2 Tagen nur eine Hefetrockensubstanz von 0,18 g; also eine Verminderung von 0,31 auf 0,18 g, d. i. um 42 Proz. Dabei hatte aber während der ganzen Versuchszeit ziemlich lebhafte Gärung stattgefunden; der Kupfervitriol macht bei 0,01 Proz. Konzentration das Gärplasma nicht unwirksam. Die Zelle aber stirbt ab, denn anders ist der beträchtliche Verlust an Trockensubstanz nicht zu erklären; mit dem Absterben wird die Zelle filtrationsfähig und läßt gelöste Trockensubstanz austreten.

Von Interesse ist hier wieder das verschiedene Verhalten der einzelnen mit Lebensfunktionen betrauten Teile der Hefezelle. Das Assimilationsplasma stirbt mit der Zelle im ganzen ab; desgleichen jedenfalls das die Vermehrung und Vererbung besorgende Plasma, dessen Hauptsitz der Kern ist. Das Gärplasma aber bleibt noch funktionsfähig trotz 2-tägiger Einwirkung von 0,01 Proz. Kupfervitriol. Wir haben hiermit abermals ein Mittel, den Gärvorgang von dem Gesamtleben der Hefezelle abzutrennen, welche Möglichkeit oft als Beweis für die Enzymnatur der „Zymase" aufgefaßt wurde; auch durch Toluol, Chloroform etc. kann man das erreichen.

Indessen reicht dieser Beweis nicht aus, da es ja wohl möglich erscheint, daß ein Teil des Plasmas allein noch einige Zeit fortlebt und funktioniert, nachdem die übrigen Zellbestandteile aufgehört haben zu funktionieren.

Zu verwundern ist es jedenfalls, daß so sehr geringe Mengen von Kupfervitriol imstande sind, die Zelle als Ganzes abzutöten. Welche Wirkung liegt da vor? Zweifellos eine solche, welche sich am Protoplasmaeiweiß selbst abspielt und sofort von einem betroffenen Teile her auf das übrige noch unveränderte Protoplasma sich überträgt, indem die Moleküle ineinander greifen.

Ein Rückblick auf die gewonnenen Resultate lehrt, daß die Assimilation leicht gestört wird durch äußere Ursachen.

1) Die Konzentration der Nährlösung ist nicht gleichgiltig, die Assimilation findet bei einer Konzentration von 20 oder 10 Proz. nicht so kräftig statt wie bei 5 Proz.

2) Die bekannten Protoplasmagifte, wie Formaldehyd, Alkaloide, stören oder verhindern den Assimilationsvorgang schon bei sehr großer Verdünnung. Formaldehyd kann schon deswegen in den Assimilationsorganen bei der Kohlensäureassimilation nicht in nachweisbarer Menge abgelagert werden.

3) Säuren sind von einer gewissen geringen Konzentration an schon schädlich für das assimilierende Plasma. Bei sehr großer

Verdünnung aber können sie als Anreiz zu stärkerer Assimilation dienen.

4) Alkohol, mit welchem die Hefe während der Gärung immer in Berührung ist, hindert schon in der Konzentration von 5 Proz. die Assimilation und Vermehrung der Hefe.

5) Eine postmortale Fortdauer des Assimilationsvorganges (nachdem die Hefezelle im ganzen abgestorben war) konnte bis jetzt nie beobachtet werden.

6) Die Temperatur spielt bei der Hefeassimilation in ähnlicher Weise mit wie bei Assimilation grüner Pflanzen. Bei 20—25° liegt das Optimum, bei niederer Temperatur hört sie ganz auf, bei 40° wird sie wesentlich schwächer als bei 20°.

Infektionsversuche mit einigen Uredineen.

Vorläufige Mitteilung

von Dr. **Fr. Bubák** (Prag).

Im Jahre 1901 und 1902 habe ich einige Infektionen hauptsächlich mit heteröcischen Uredineen durchgeführt, deren wichtigste und positive Resultate ich vorläufig in kurzem Auszuge veröffentliche:

1) Durch Aussaat der Sporidien von Puccinia Balsamitae (Strauß) Rabh. wurde auf den Blättern von Tanacetum Balsamita primäre Uredo mit Spermogonien gezüchtet.

2) Zu Uromyces Scirpi (Cast.) Lagerh. auf Scirpus maritimus gehört als erste Sporengeneration auch Aecidium Berulae m. auf Berula angustifolia (Infektionsversuche wurden von H. Dir. Kabát durchgeführt) und Aecidium carotinum m. auf Daucus carota.

3) Puccinia Schneideri Schröter auf Thymusarten ist eine Micropuccinia, denn Aecidium Thymi Fuckel gehört zu Puccinia Stipae Opiz; durch Aussaat der Sporidien von Puccinia Stipae gelang es, Aecidien auf Thymus humifusus, chamaedrys und pannonicus zu züchten.

4) Endophyllum Sedi DC von Sedum acre und boloniense ist ein Aecidium, wie schon Schröter vermutete, und gehört genetisch zu Puccinia longissima Schröter auf Koeleria-Arten. Durch Aussaat der genannten Aecidio-Sporen erzog ich wiederholt Uredo auf Koeleria gracilis.

Ausführlichere Beschreibung der Infektionsversuche und der betreffenden Pilze folgt in dieser Zeitschrift später.

Beitrag zur Kenntnis des Hausschwammes, Merulius lacrymans [1].

Von Prof. Dr. C. v. Tubeuf.

Mit 1 Figur.

Seit dem Erscheinen von Hartig's auf eigenen Versuchen und Beobachtungen beruhender Monographie [2]) über den echten Hausschwamm ist außer populären oder bautechnischen Schriften [3]) wenig neues über den schlimmsten Zersetzer des Bauholzes veröffentlicht worden. Vom chemischen Standpunkte wurde der Hausschwamm von Poleck (l. c.) untersucht. Botanisch Neues brachte Wehmer [4]) durch seine Mitteilung, eine Conidienform des Hausschwammes gefunden zu haben. Die Conidien waren fast kugelig bis schwach oval, saßen einzeln den Hyphen an und zeigten die braune Farbe der Basidiensporen. Diese Conidienform war die einzige Sporenform, die Wehmer bei einer ausgedehnten Hausschwammzerstörung eines großen Gebäudes fand. Die dem Wehmer'schen Artikel beigefügte Zeichnung läßt an den abgebildeten Mycelfäden Schnallenzellen nicht erkennen. Da deren Vorhandensein auch im Texte nicht erwähnt ist, erscheint es zweifelhaft, ob der conidientragende Pilz Merulius lacrymans oder überhaupt ein Hymenomycet gewesen ist. Damit sind aber auch die Folgerungen Wehmer's über die Verbreitungsart des Hausschwammes unsicher geworden.

Es soll hier noch erwähnt werden, daß Brefeld bei seinen künstlichen Kulturen eine Conidienform nicht beobachtet hat, und daß auch Hartig und der Verfasser wie andere Beobachter des Hausschwammes solche Conidien nicht gesehen haben. Marpmann [5]), welcher einen Auszug aus den Arbeiten von Hartig und denen von Göppert-Poleck giebt, zitiert einen Artikel aus der pharmaceut. Zentralhalle 1901, in dem der Nachweis des Hausschwammes durch höchst merkwürdige mikrochemische Reaktionen versucht wird. Auch Marpmann ist der Ansicht, daß diese Reaktionen zu einem bestimmten Nachweise des Hausschwammes nicht führen

---

1) Die Versuche habe ich als Vorsteher der Biologischen Abteilung für Land- und Forstwirtschaft am Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin ausgeführt, meine jetzige Adresse ist: München, Amalienstraße 67. Für Mitteilungen über das Vorkommen des Hausschwammes im Walde wäre ich dankbar. Der Verf.

2) R. Hartig, Der echte Hausschwamm (Merulius lacrymans Fr.). Mit 2 lith. Taf. in Farbendruck. Berlin (Springer) 1885.

3) Besonders: Nöthling, Der Schutz unserer Wohnhäuser gegen die Feuchtigkeit. — Göppert-Poleck, Der Hausschwamm, seine Entwickelung und seine Bekämpfung. — Kern, Hausschwamm und Trockenfäule. — Göldner, Der Hausschwamm und seine Verhütung. — Gottgetreu, Die Hausschwammfrage. — Hennings, Der Hausschwamm etc. — Stettner, Das Antinonin. — Dietrich, Die Hausschwammfrage.

4) Wehmer, Eine zweite Sporenform des Hausschwamms. (Centralbl. f. Bakteriol. II. Abt. Bd. IV. p. 189.)

5) Marpmann, Ueber Leben, Natur und Nachweis des Hausschwammes und ähnlicher Pilze auf biologischem und mikroskopisch-mikrochemischem Wege. (Centralbl. f. Bakteriol. II. T. Bd. VII. 1901. p. 775.)

können. Es bleibt, sagt er, also nur die biologische Probe für die Entscheidung, ob nun in der That das Schwammholz aus Merulius- oder Polyporus-Trametes-Agaricus- etc. Wucherungen hervorgegangen ist. Marpmann will diese so führen, daß er zerkleinertes Schwammholz mit frischem Harn befeuchtet in Blechdosen legt, die etwa nun wachsenden Mycelien auf sterile Harn-Pepton-Gelatine impft und von dieser Kultur auf gesundes Tannenholz überträgt. Wächst Mycel — so ist es ein Schwammholz! Entwickelt es Hausschwammfruchtkörper, so war es von Merulius lacrymans zersetzt!

So geschieht der oftmals 3—4 Monate dauernde Nachweis im Marpmann'schen „Kulturtopf"! — Es ist sehr zu bezweifeln, ob Marpmann jemals eine solche Kultur gemacht hat, jedenfalls erscheint sie denkbar unzweckmäßig. — Will man den Hausschwamm nachweisen, so sucht man zunächst nach den in der Regel noch vorhandenen grauen Mycelhäuten, dann nach den dicken Mycelsträngen, sodann nach Fruchtkörpern. Das Mycel ist durch die Art der ausgewachsenen Schnallenzellen auch im zersetzten Holze nachweisbar. Viel leichter ist der Hausschwamm durch die anatomische Struktur der derben Stränge oder die Sporen der Fruchtkörper zu bestimmen. Das alles ist in Hartig's „Der echte Hausschwamm [1]", Verlag von Springer, Berlin, genau dargestellt.

Ist die Beschädigung noch frisch, so gelingt es leicht, das Mycel aus den zersetzten Holzstücken zur schönsten charakteristischen Entwickelung zu bringen, wenn man die Holzstücke auf feuchtes Sägemehl oder feuchte Erde, oder Filtrierpapier in ein geschlossenes Glas legt. Ein Befeuchten mit Urin wäre sehr unzweckmäßig, weil hierdurch Bakterien und verschiedene Pilze sich entwickeln, ein Ueberimpfen auf Gelatine ist gar nicht leicht und absolut unnötig. Jedes beigefügte Stück Holz wird alsbald befallen. Der Hausschwamm ist entweder in einigen Tagen oder überhaupt nicht mehr nachzuweisen. Das wichtigste bei der Bestimmung ist der Sachverständige. Für den Kenner genügt bei lebenden Objekten in der Regel ein Blick, um zu bestimmen, ob Merulius lacrymans, Polyporus vaporarius oder ein anderer Pilz vorliegt. —

Hartig wies schon in verschiedenen seiner pflanzenpathologischen Arbeiten (insbesondere in den „Zersetzungserscheinungen des Holzes der Nadelholzbäume und der Eiche", Berlin, Springer, 1878, wie in seinem Lehrbuch der Baumkrankheiten) darauf hin, daß den holzzersetzenden Pilzen spezifische Fermente eigen seien, welche die verholzenden Stoffe der Zellmembranen im Holzkörper lösen, so daß die Cellulose übrig bleibt und daß sie auch die Cellulose lösen können. Hiervon ist speziell in Hartig's monographischer Bearbeitung des Hausschwammes die Rede. O. Löw versuchte auf Anregung Hartigs dieses Ferment zu fällen. Es gelang dies in den gesammelten „Thränen" des Hausschwammes nicht. Man kann wohl annehmen, daß dieselben ein Ferment auch nicht enthalten.

1) Erscheint demnächst in neuer Auflage.

In neuester Zeit hat sich Czapek[1]) mit der Untersuchung des wirksamen Fermentes beschäftigt.

Er gewann das Ferment in der von Buchner bei der Hefe angewendeten Weise durch Zerreiben des Mycels und Auspressen des Preßsaftes. Das Enzym lies sich mit Alkohol fällen. Es hatte die Fähigkeit, aus der verholzten Membran die sogenannten inkrustierenden Substanzen (Lignin) zu befreien, so daß die Holzmembranen Cellulosereaktion gaben. Es wurde dann weiter auch Cellulose gelöst. Somit waren 2 Fermente vorhanden. Czapek nennt das Enzym, welches die „ätherartige Hadromal-Cellulose-Verbindung" spaltet: Hadromase, jenes, welches die Cellulose löste: Cytase. Daß Hadromal der Träger der sogenannten Ligninreaktion sei, hat gleichfalls Czapek nachgewiesen.

Nach den Hartig'schen Untersuchungen nimmt an Holz, welches vom Hausschwamm zersetzt ist, die Ligninreaktion nur wenig ab. Es scheint daher, daß Hadromal von Hausschwamm zwar aus seiner Celluloseverbindung abgespalten wird und dann mit Alkohol auswaschbar ist, daß es aber vom Hausschwamm nicht völlig aufgezehrt wird. Dagegen soll Cellulose die Hauptnahrung des Hausschwammes bilden. (Ich habe in gleicher Weise wie Czapek den Preßsaft des Hausschwammes, der mit ein paar Tropfen Chloroform versetzt wurde, zu Holzfeile gegeben, die erwünschten Reaktionen dann aber nicht erhalten können.)

Nach Mäule's Untersuchungen[2]) ist Hadromal zwar ein ständiger Begleiter der verholzten Substanz, ohne daß ihm die verholzende Wirkung zuzuschreiben wäre. Es bildet nur einen sehr geringen Prozentteil der Trockensubstanz des Holzes und stellt nicht den verholzenden Stoff, das sogenannte Lignin dar, wenn es auch diejenige Substanz ist, welche die sogenannte Ligninreaktion giebt und deren Reaktion den Zustand der Verholzung erkennen läßt, weil sie eben stets in verholzten Membranen vorhanden ist. (Kohnstamm teilt in seiner Inaug.-Diss. Erlangen 1900 mit, er habe ein amylotisches, ein glycosidspaltendes, ein proteolytisches und ein celluloselösendes Ferment in Hausschwamm-Preßsaft nachgewiesen.)

Zur Festsetzung der dem Hausschwamm dienlichen Nährstoffquellen wurde eine Anzahl Versuche ausgeführt. Hartig machte schon einen Anfang in dieser Richtung, indem er dem Hausschwamme Cellulose in Form von Watte gab und beobachtete, daß die von Mycel umwucherten Wattefäden eine Veränderung nicht erkennen ließen.

Genauerer Aufschluß war zu erwarten, wenn man dem Pilze alle Nährstoffe als gelöste Salze bot und nur die Kohlenstoffquelle variierte. In dieser Weise bekam Behrens[3]) klare Resultate bei seinen Versuchen mit Botrytis und anderen Pilzen. Ich benutzte

---

1) Czapek, Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1899. p. 166.

2) Mäule, Das Verhalten verholzter Membran gegen Kaliumpermanganat, eine Holzreaktion neuer Art. Habil.-Schrift. Stuttgart (Zimmer's Verlag) 1901.

3) Behrens, Beiträge zur Kenntnis der Obstfäule. Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. II. Bd. IV. 1898.

daher bei meinen Versuchen eine der Behrens'schen Nährlösungen mit der kleinen Abweichung, daß ich nicht Sporenaussaaten machte, sondern auf Nährgelatine gezogene Mycelflöckchen verwendete, dagegen auf den Zusatz von Zuckerspuren verzichtete.

Zunächst wurde das Hausschwamm-Mycel auf Gelatine in Petrischalen gezogen. Der Gelatine wurden verschiedene Nährmedien und verschiedene Wassermengen beigegeben, außerdem wurde ihr zur Abhaltung von Bakterien Zitronensäure zugesetzt. Der Wassergehalt der Gelatine schwankte zwischen 5 und 10 Proz. Der Hausschwamm wächst auf Gelatine, teils in dickeren Watten, teils in flacheren, dünneren Häuten, ähnlich wie auf natürlichen Substraten, wo er bald in spinnwebartig zarten enganliegenden mit feinen Strängen durchwobenen Häuten, bald in dicken wie Watte hervorquellenden Bauschen erscheint.

Die der Gelatine beigegebenen Nährstoffe bestanden aus Liebig'schem Fleischextrakt und aus Malzextrakt, bei einigen noch mit Zusatz von Rohrzucker. Die Säure bestand aus Krystall-Citronensäure. Von letzterer wurden 3 Proz. noch gut vertragen. Von den reinen Kulturen wurden kleine Mycelstücke mit einer Spur anhaftender Gelatine in die sterilisierten Versuchskölbchen übertragen.

Die Nährlösung in den Kölbchen enthielt pro Liter:

10 gr Ammonnitrat,
5 „ Kaliumphosphat,
1 „ Magnesiumsulphat,
2 „ Milchsäure.

Die Kölbchen enthielten außer 50 gr der Nährlösung:

1. 5 gr Gelatine + 10 gr Rohrzucker,
2. 10 „ Filtrierpapier (gewöhnliches),
3. 10 „ Filtrierpapier (schwedisches),
4. 10 „ Hobelspäne von Kiefernholz,
5. 10 „ Verbandwatte.

Es sollte sich zeigen, in welchen Kölbchen der Schwamm sein Gedeihen finden, d. h. mit welcher Kohlenstoffquelle er auskommen würde.

Auf dem schwedischen Filtrierpapier zeigte das Hausschwammmycel das beste Gedeihen und überzog in dichtem Rasen das Papier. Es kann angenommen werden, daß außer der Milchsäure die Cellulose als Kohlenstoffquelle von ihm benutzt wurde. Auf den Kiefernhobelspänen zeigte sich kein rechtes Wachstum, ebenso ging es auf Watte bald wieder ganz zurück. Auf Gelatine mit Rohrzucker wächst der Pilz in sehr flacher Schicht (Kölbchen 1) äußerst langsam. Die Kulturen in Petrischalen gediehen gut auf unserem gewöhnlichen Nährboden (je 25 $^0/_{00}$ Malz- und Fleischextrakt, 1 Proz. Citronensäure, 6 Proz. Gelatine) und wuchsen hier ziemlich schnell. Das Mycel wuchs locker, watteartig, feine radiale Stränge auf der Gelatineoberfläche bildend.

Wurde 1 gr Ammonnitrat, 0,5 gr Kaliumphosphat, 0,1 Magnesiumsulfat, 0,2 gr Citronensäure, 5 gr Gelatine zu 100 gr Wasser verwendet, so wuchs der Pilz bei Zusatz von 1 gr, 5 gr und 10 gr Traubenzucker und bei 5 und 10 gr Rohrzucker gut, flockig, weiß

(bei 1 gr Rohrzucker schwächer). Wurde das Ammonnitrat ersetzt durch Ammoniak, so wuchs er bei 5 gr und 2 gr und 1 gr gar nicht, bei 0,5 gr anfangs gut, bis Penicillium überwucherte, bei 0,2 gr und rein bleibender Kultur, sehr schwach, blieb aber lebend; ohne Stickstoff wuchs er ganz wenig und ganz flach auf der Gelatine. Die Versuche, Ammoniak als Stickstoffquelle zu geben, wurden noch in verschiedener Form fortgesetzt. Einmal wurde der Schwamm auf Holzstoffplatten gezogen, welche in der oben angegebenen Mineralnährlösung lagen. Derselben wurde Ammoniak beigegeben. Ferner wurden Kölbchen mit der Nährlösung ohne N u. Filtrierpapier in ein großes Glas gestellt, in welches Ammoniak gegossen wurde, so das es gasförmig zu dem Hausschwamm gelangen konnte. Das üppige Gedeihen des Hausschwammes in der Nähe von Aborten und an Stellen, wo kein Stickstoff mit ihm in direkte Berührung kommt, lies vermuten, daß er von dem gasförmigen Ammoniak, wenn er von der Feuchtigkeit auf oder bei dem Schwamm absorbiert wird, Nutzen ziehen werde. Da das Wasser bei gewöhnlicher Temperatur eine so große Menge Ammoniakgas zu absorbieren vermag, würde dasselbe sicherlich eine reiche Stickstoffquelle für den Pilz abgeben, dabei könnten ihm feine Thränen durch die Gasabsorption von Bedeutung sein. Es war jedoch nicht mehr möglich den für den Pilz geeigneten Ammoniakgehalt in der Luft des Kulturgefäßes zu finden.

Sehr auffällig ist das Auftreten gelber Hyphen in dem völlig weißen Hausschwammmycel. Sie scheinen nur unter besonderen Bedingungen aufzutreten. Die gelben Hyphen enthalten teils gekörntes Plasma, teils eine dichte homogene intensiv gelbe Inhaltsmasse. Das Gelbwerden kann man an Mycelien auf Holzstücken beobachten wie auf der Nährgelatine bei Licht wie im Dunkeln. Es treten manchmal die gelben Partieen als zerstreute Flocken der Mycelwatten auf, meist aber beginnt die Gelbfärbung vom Centrum der Kolonie aus, während der wachsende Rand der Mycelscheibe weiß erscheint. In einem Falle wurde dagegen bei einer Petrischalen-Kultur zuerst nur der Rand gelb, welcher gegen die Glaswand emporgewachsen war. Die übrige Schale erschien weiß, wurde dann aber in 3—4 Tagen vollständig und gleichmäßig schwefelgelb.

Bei einer Kartoffelkultur war der Farbstoff in die mit verkochter Stärke prall gefüllten Zellen eingedrungen und hatte sie gelb gefärbt, ohne daß das Mycel, welches die Oberfläche überwucherte, eingedrungen wäre. Eine scheibenförmige Kultur, welche in einem großen Glasgefäße wochenlang wachsend erhalten wurde, hatte circa 5 cm Halbdurchmesser der gelbgefärbten Innenscheibe und circa 2 cm breiten, weißen Rand. Zur Fruchtkörperbildung kam es jedoch nicht und scheint die gelbe Farbe auch auftreten zu können, ohne daß gerade die Fruchtkörperbildung eingeleitet würde.

Bei der erwähnten Kartoffelkultur sah man, wie die pallisadenförmig gestellten Randhyphen einer Falte gelbe Kügelchen ausschieden. Die gelbe Farbe verschwindet nicht in Alkohol, verblaßt aber in Chloroform.

In Osmiumsäure werden die gelben Mycelstücke augenblicklich blauschwarz, schwarz, braunschwarz, was bei den weißen Hyphen nicht der Fall ist.

Es handelt sich demnach hier um ein gelb gefärbtes Fett, welches im Mycel gleichmäßig, aber nicht in Tropfenform auftritt, dagegen tropfenförmig ausgeschieden werden kann.

Ueberträgt man ein Stückchen Gelatine mit gelbem Mycel auf frische Nährgelatine, so tritt Fett in die Gelatine über und färbt sie gelb, dann aber wachsen die Hyphen zu einem rein weißen Mycel weiter.

Bei der künstlichen Kultur des Hausschwammes auf unserem gewöhnlichen Nährboden wurde das schnell und locker gewachsene, weiß gebliebene Mycel zuletzt vielfach kreidig. Es zeigte sich, daß diese Erscheinung durch die Bildung von Gemmen, Chlamydosporen, bei den Lufthyphen hervorgerufen wurde. Dieselben entstanden in ganzen Ketten der im übrigen collabierenden Hyphen. Aufs neue ausgesäet kamen sie zur Keimung und bildeten wieder normale, alsbald Schnallen tragende Mycelien. Wie es scheint, tritt diese Bildung ein bei frühzeitiger Erschöpfung des Nährbodens. Andere Sporen oder Conidienformen traten in meinen Kulturen nicht auf.



Keimung der Gemmen.

Zur Bestimmung der höchsten und niedrigsten Temperaturgrenze für das Wachstum des Hausschwammes wurden einige Versuche angestellt. Bei mehrtägigem Aufenthalt starben Hausschwammkulturen auf Holzstücken im Thermostat mit 30—33 ° C., ebenso eine Agarkultur ab, dagegen blieben Gelatinekulturen nach einem Aufenthalt von 17—24 Stunden trotz Verflüssigung der Gelatine lebend.

Im Eisschrank zeigten Gelatinekulturen bei einer Temperatur von 4—6 ° C. noch langsames Wachstum.

Da in der Litteratur angenommen wird, daß der Hausschwamm im allgemeinen nur Nadelholz angehe und allenfalls auch Eichenholz zersetze, erschien es wünschenswert zu erfahren, ob er nicht etwa jegliches Holz zersetze. Es hat sich gezeigt, daß er die ihm gebotenen Hölzer vollständig zerstört, dies waren außer Nadelhölzern noch Birkenholz, Holz vom Faulbaum, Erle etc.

Der weiter ausgedehnte Versuch gelang nicht, weil die verwendeten Hölzer von eben gefällten Bäumen stammten und in diesem Stadium schwer angegriffen werden. Außerdem wuchs der Schwamm auch zur Winterszeit weniger.

Ferner wurden verschiedene Materialien der Einwirkung des

Hausschwammes in der Art ausgesetzt, daß sie in üppig wachsende Mycelrasen in Schwammkeller gelegt wurden.

Hierzu wurde eine Tafel Celluloid benutzt, ferner Collodiumhäute, Harz, Baumgummi, verkientes Holz; endlich auch Stücke geschliffenen Marmors. Dieser letztere wurde in den Versuch einbezogen, um die Wirkung des Mycel auf glatte Kalkflächen zu sehen. Es hatte sich früher einmal bei einer Besichtigung eines Lagers Solenhofer Platten durch den verstorbenen Prof. Hartig und den Verf. ergeben, daß diese Lithographiesteine, welche auf Holzstellagen ruhten, vom Schwamme angeätzt waren, so daß die Lithographie unbrauchbar wurde. Es war daher zu erwarten, daß auch die Marmortafeln von dem Hausschwammmycel ähnlich wie von Phaneragonnenwurzeln angeätzt würden. Unsere Expositionszeit war jedoch zu kurz und fiel in die Wintermonate, so daß eine Zerstörung der Objekte am 15. März, als ich abschließen mußte, noch nicht sichtbar war. Es sollte auch festgestellt werden, ob der Hausschwamm imstande ist, lebende Pflanzen zu befallen.

Daß er lebende Kartoffelknollen nicht angeht, hat schon Hartig nachgewiesen; wir haben das bestätigt. Praktisch wichtig ist es zu wissen, ob er lebende Waldbäume befallen kann.

Da es im Winter nicht möglich war, Stämme im Freien anzubohren und zu infizieren, mußten die Versuche im Gewächshause angestellt werden.

An alten Stämmen wäre es sehr wohl denkbar, daß der Hausschwamm — auch wenn er den Splint nicht angriffe — das vollständig tote Kernholz z. B. von der Kiefer befallen würde. Er hätte hierin allerdings sehr wenig Stickstoffnahrung, da die Markstrahlzellen entleert sind. Im Splint würde ihm das Wachsen in den toten Tarcheiden ebenfalls leicht sein — wenn wir ihn als reinen Saprophyten betrachteten; allein auch hier würde ihm der Stickstoff mangeln. Es ist daraus zu schließen, daß er nur dann im lebenden Stamme wachsen kann, wenn er als Parasit die Parenchymzellen des Splintes töten und ihres Stickstoffinhaltes berauben kann.

Ob er im lebenden Baume leben kann, ist außerdem abhängig von seinem Sauerstoffbedürfnis.

Die Versuche an lebenden Bäumen im Freien mir vorbehaltend, habe ich nun lebende Fichten, Tannen und Föhrenpflanzen mehrjährigen Alters in Blumentöpfen und unter Glasglocke mit Hausschwamm infiziert, daß die Stämmchen angeschnitten und an dieser Stelle mit Brettchen voll lebenden Hausschwammes in direkte Berührung gebracht wurden. Außerdem machte ich eine Reihe von Stecklingen von Pappeln und Weiden und legte über die obere Schnittfläche der in geschlossenem Glase in feuchtem Sande stehenden Stangen Brettchen mit wucherndem Schwamm auf.

Ein positiver Infektionserfolg war auf diese Weise nicht zu erzielen. Um aber sicher zu sein, dürfte es sich empfehlen, die Versuche zu wiederholen.

Da der Hausschwamm nach meinen Beobachtungen frisch gefälltes, Wasser gesättigtes Holz nicht gleich anzugreifen vermag und bei allen Kulturen auf Agar oder Gelatine ganz oberflächlich

wächst, ist zu vermuten, daß er in lebenden Stämmen seine vollen Existenzbedingungen nicht findet. Es dürfte ihm an der nötigen Luft im Innern eines lebenden Stammes fehlen und ihm außerdem die Fähigkeit das Parenchym zu töten und seines Stickstoffgehaltes zu berauben nicht zukommen. So erklärt sich wohl auch die große Seltenheit seines Vorkommens im Walde, wo er nur wenige Male und nur an totem Holze gefunden wurde.

Ein besonderer Versuch sollte den Einfluß des als Pilzgift am meisten in der Praxis verwendeten Kupfervitriols feststellen.

Es wurde daher zunächst ein Stück Krystall-Kupfervitriol auf die saure Nährgelatine (bereitet aus 6 Proz. Gelatine, 25 Prom. Malzextrakt, 25 Prom. Liebig'schem Fleischextrakt und 1 Proz. Citronensäure) gelegt und zwar neben eine wachsende Hausschwammdecke. Der Kupfervitriol nahm alsbald Wasser auf, löste sich und vermischte sich mit der Gelatine auf eine bestimmte Region. Der Hausschwamm aber zeigte keine Hemmungsreaktion, sondern wuchs über die blaugrüne Gelatineschicht unbehindert weiter.

Nach diesem Vorversuch wurde in Petrischalen dieselbe Nährgelatine mit Hausschwamm-Mycel infiziert. Die eine Schale hatte 1 Proz. Kupfersulfat, die andere 2 Proz., die 3. 5 Proz. in der Nährgelatine erhalten. In der ersten Schale wuchs der Schwamm vom 20. Februar bis 8. März ganz gut, in der 2. viel schlechter, in der 3. aber noch schlechter. Der Pilz war aber beim Abschluß des Versuches, am 15. März, noch in allen Schalen lebend.

Es wurden nun unserer gewöhnlichen Nährgelatine 2 Proz. einer normalen 2 proz. Bordelaiserbrühe (gleiche Teile gebrannter Kalk und Kupfervitriol) zugesetzt. Hierin starb das Mycel ab. In einer Gelatine mit einer Mischung von 2 Proz. Kupfervitriol und $^1/_2$ Proz. Kalk, die also sauer war, wächst das Mycel vom 27. Februar bis 13. März noch. Es scheint, daß ihm der Kalküberschuß schädlich ist, während das Kupfer keine giftigen Eigenschaften äußerte!

Dies ist von großer Wichtigkeit, da gewisse Imprägnierungsverfahren der Hölzer, bei denen Kupfer der wirksame, pilzwidrige Bestandteil ist, auch mit Rücksicht auf den Hausschwamm und seine Holzzersetzung empfohlen werden.

Im Gegensatz zu den, eigene Interessen rücksichtslos verfolgenden Anpreisungen von Kupferpräparaten gegen alle möglichen Pflanzenkrankheiten und Pilze erscheint jeder wirkliche Versuch, die Wirksamkeit der Kupfermittel in speciellen Fällen zu erproben, von Wert zu sein.

Die geringe Unwirksamkeit der Kupfersalze gegen Botrytis haben Ravaz uud Gouirand und auch Behrens[1]) genauer nachgewiesen. Letzterer zeigte auch die geringe Wirkung der Kupfersalze auf die Entwickelung von Oidium fructigenum. Gegen den alkalischen Bestandteil der Bordelaiserbrühe, das Kalkhydrat ist der Hausschwamm empfindlich, ebenso wie die Botrytis.

---

1) Behrens, Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. (Centralbl. f. Bakteriol. und Parasitenk. 2. Abt. B. IV. 1898.)

Bezüglich der Empfindlichkeit gegen Säuren zeigte es sich, daß 3 Proz. Citronensäure keine schädliche Wirkung erkennen ließ.

Auf $^1/_2$ proz. Agar mit unserer gewöhnlichen Nährlösung von je 25 Prom. Fleischextrakt und Malzextrakt, sowie 3 Proz. Citronensäure, die wegen der Säure nicht erstarrt war, wuchs der Hausschwamm befriedigend.

Ein Versuch mit Formaldehydgas auf ein mit Polyporus vaporarius durchwachsenes Brettstück einzuwirken, ergab das alsbaldige Absterben aller auf der Brettoberfläche wachsenden Mycelhäute und Stränge. Die mit abgestorbenem Mycel bedeckte Fläche wurde nun alsbald mit den Rasen von Penicillium überzogen, die sich von den Resten des getöteten Pilzes ernährten. Das Brett wurde wieder in eine Zinkschachtel mit feuchter Erde zurückgebracht. Schon nach kurzer Zeit wuchs nun aus dem Innern des Brettes der Polyporus vaporarius wieder heraus, überwucherte die Penicillium-Rasen und bedeckte die ganze Brettfläche mit seinen schönen weißen Mycelhäuten.

Daß das Formaldehydgas nicht eindringen werde, war von vorn herein zu erwarten. Es könnte dadurch also auch nur eine Weiterverbreitung des Hausschwammes und seiner Verwandten verhindert werden. Bei der Schnelligkeit, mit der aber diese Pilze wieder wachsen, dürfte die Bekämpfung mit Formaldehydgas nicht zu empfehlen sein.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Aus der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München.

Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe[1]).

Von Dr. **H. Will**.

VI. Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden.

B. Die Erscheinungsformen der Riesenkolonie.

Es ist das unstreitbare Verdienst von P. Lindner in Berlin, in die Diagnose der Hefenarten ein neues und, wie wir jetzt wohl sagen dürfen, wichtiges Element, die sogenannte Riesenkolonie eingeführt zu haben.

Der Wert der Riesenkolonie für die Diagnose der Hefenarten wurde bald auch von anderer Seite gewürdigt und darf bei Untersuchungen über Hefe oder dieser nahestehende Organismen wohl kaum mehr eine Angabe über das Wachstum in Form von Riesenkolonieen auf verschiedenen Substraten bei verschiedener Temperatur fehlen. Dieselbe gehört jetzt zu einer vollständigen Beschreibung einer Hefenart, und sind hierdurch schon manche für

1) Nach Mitteilungen der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. Zeitschr. ges. Brauwesen Bd. XXV. 1902. No. 16. u. 17. p. 241. Vergl. d. Centralbl. Bd. I. 1895. p. 449; Bd. II. 1896. p. 752; Bd. V. 1899. p. 726.

die Gruppierung der Hefen wertvolle Gesichtspunkte gewonnen worden.

Dieser Grund allein wäre also schon ausschlaggebend gewesen, das Wachstum der vier vergleichend untersuchten Hefen in Form von Riesenkolonieen zu studieren; mich leitete jedoch hierbei noch ein anderer, tiefer liegender.

Als im Jahre 1893 die zweite Abhandlung von Lindner über die Riesenkolonieen mit einer sehr schönen Lichtdrucktafel erschien, befand ich mich inmitten meiner früher (1898 und 1899) publizierten Untersuchungen über die Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden, bei welchen ich sämtliche im Entwickelungskreis der Hefekulturen in Nährflüssigkeiten auftretenden Generationen in meine Beobachtung einbezog. Ganz spezielle Aufmerksamkeit habe ich hierbei den Veränderungen der Einzellkolonieen im Laufe der Zeit gewidmet und analoge Erscheinungen, wie bei der Hautbildung auf flüssigen Substraten beobachtet, die zu der Anschauung führten, daß es sich bei diesen Veränderungen der Kolonieen um Kahmhautbildung auf festem Substrat handelt, welche gemäß den geänderten Verhältnissen gewisse Modifikationen erfährt [1]). Gleichzeitig angelegte Kulturen von Riesenkolonieen und deren mikroskopische Untersuchung bekräftigten dieselbe nur noch mehr und führten dazu, die Kahmhautbildung auf flüssigen Nährsubstraten und die Riesenkolonieen auf festen als im Wesen identisch zu betrachten.

Zu einer systematischen Untersuchung der Riesenkolonieen der vier untergärigen Arten von Bierhefe gelangte ich erst in den Jahren 1895 und 1896.

Wenn der Beweis geliefert werden sollte, daß die Kahmhautbildung auf flüssigem und die Riesenkolonieen auf festem Nährsubstrat im Wesen identisch sind, so mußte wie bei ersterer die Entwickelungsgeschichte genau studiert werden. Für das Verständnis der besonderen Wachstumsform der Riesenkolonie war dann auch das Studium des anatomischen Baues und die Morphologie der dieselben zusammensetzenden Zellen nach denselben Gesichtspunkten wie bei der Untersuchung der Kahmhautgenerationen notwendig. Diese morphologischen Untersuchungen mußten dann durch chemisch-physiologische ergänzt werden.

Die Riesenkolonie ist jedenfalls die morphologisch und physiologisch höherstehende Entwickelungsform der Hefen und infolgedessen auch in systematischer Beziehung eines der wichtigsten Merkmale der verschiedenen Hefearten.

Ich habe die Ueberzeugung, daß dem Wachstum der Hefe in Form von Riesenkolonieen vom rein wissenschaftlichen Standpunkt aus viel mehr Aufmerksamkeit geschenkt werden muß als irgend einer anderen Erscheinungsform derselben.

Vielleicht kommen wir noch dazu, die Riesenkolonie als Analogon des Pilzkörpers höherer Pilzformen aufzufassen.

Wenn also thatsächlich die Hautbildung auf flüssigen Nährsubstraten mit der Riesenkolonie ihrem inneren Wesen nach iden-

1) Vergl. Zeitschr. ges. Brauwesen. Bd. XXII. 1899. p. 224.

tisch ist, so eröffnet sich uns auch ein besseres Verständnis für die in ersterer auftretenden Zellformen und Erscheinungen. Die verschiedenen Zellelemente, welche in den Hautbildungen regellos zerstreut sind, erscheinen in den normal ausgebildeten Riesenkolonieen in bestimmter, regelmäßiger Weise angeordnet und bedingen den morphologischen Charakter derselben. Die Riesenkolonieen sind in bestimmter Weise organisiert. Mit dieser Organisation scheint aber allgemein auch den verschiedenen Zellen eine verschiedene Funktion angewiesen zu sein; es geht also möglicherweise mit der Differenzierung der Funktion eine Differenzierung der Form Hand in Hand. Zum Teil scheint diese Differenzierung auch in der Beschaffenheit des Zellinhaltes zum Ausdruck zu kommen.

Diese physiologische Differenzierung könnte dann aber unter anderem auch in einer von der Bodensatzhefe, der alkoholischen Gärung angepaßten Entwickelungsform abweichenden Wachstumsweise der Einzellkolonieen zum Ausdruck gelangen, wie ich dieselbe bei einzelnen der Hefen konstatiert habe.

Die dem Prinzip der Arbeitsteilung entsprechend besonderen Funktionen angepaßten Zellformen, deren spezielle Arbeitsleistung der Gesamtheit der die Riesenkolonie aufbauenden Zellen zu gute kommt, bezw. deren Nachkommen können aber durch Einführung in zuckerhaltige Lösungen wieder früher oder später zur Alkoholgärungsform zurückgeführt werden, d. h. die ursprünglich vorhandenen Funktionen werden mehr oder weniger zurückgedrängt und die Fähigkeit, Zucker zu vergären, wird wieder in den Vordergrund geschoben (vgl. Abschnitt VI d. vergl. Untersuch. Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1889. p. 151).

Die Fähigkeit, Zucker in Alkohol und Kohlensäure zu zerlegen, ist nur ein spezieller Fall der Anpassung, welche durch die Zusammensetzung des Substrates bedingt ist und sich bei der einen Hefenart früher, bei der anderen später vollzieht. Die Kahmhautzellen gehen dabei im allgemeinen schwieriger in die Gärungsform über als die Gärungsform in die Kahmhautgenerationen.

Die verschiedenen Hefenarten werden aber auch als solche Zellen von spezifischer Form erzeugen, welche neben den die allgemeine Wachstumsform der normalen Riesenkolonieen bedingenden Zellelemente die spezifischen Erscheinungsformen der Riesenkolonieen der verschiedenen Hefenarten bedingen. Erst die Erkenntnis des Baues und der Organisation der Riesenkolonieen giebt uns ein richtiges Verständnis für die in den Hautbildungen auf flüssigen Nährsubstraten auftretenden Zellformen. Durch den Vergleich wird es klar, warum wir gewisse Zellformen, wie die gestreckt wurstförmigen Zellen, in allen Kahmhäuten wiederfinden, andere dagegen wieder nur bei einzelnen Hefenarten vorkommen, für dieselben specifisch sind. Die Erkenntnis des Baues und der Organisation der Riesenkolonieen wird uns dann aber auch verstehen lernen, warum beispielsweise schon in den jungen Kahmhäuten gestreckt-wurstförmige Zellen wie in den auf festem, ihrem vielleicht unter natürlichen Verhältnissen gewöhnlichem Substrat, wachsenden

Riesenkolonieen auftreten. In den Kahmhäuten auf flüssigen Substraten bleiben die in den Riesenkolonieen auftretenden Zellformen erhalten, obgleich sie ihre specielle Funktion für die Gesamtheit der Zellen nicht mehr zu leisten haben. Von diesem Gesichtspunkte aus werden wir dann vielleicht auch noch andere Zellen, wie die rundlichen, zartwandigen mit einer sehr großen Anzahl von Oelkörperchen, welche sich regelmäßig im Hefering, aber auch in den Kahmhäuten selbst vorfinden und den als „Dauerzellen" bezeichneten zwar ähnlich, aber von denselben verschieden sind, besser als bisher deuten.

I. Wachstumsform der Riesenkolonie bei Aussaat von Bodensatzhefe (Alkoholgärungsform).

a) Die ersten Entwickelungsstadien.

Zu den Versuchsreihen, an welchen die ersten Entwickelungsstadien der Riesenkolonieen studiert wurden, kam nur 10-proz. Gelatine zur Verwendung, welche aus einer gewöhnlichen gehopften Bierwürze von 14,5 Proz. Bllg. hergestellt worden war. Die Entwickelung wurde im Panum'schen Thermostaten gleichzeitig an je 4 Kulturen bei 20° C beobachtet.

Von Stamm 2 und 6 kam eine 46. und eine 51. Ueberimpfung in Bierwürze, welche immer in kurzen Intervallen ausgeführt worden war, zur Einsaat, von Stamm 7 und 93 eine 52. und eine 54. Ueberimpfung. Die Einsaathefe hatte sich während 4 Tage bei 25° C entwickelt und befanden sich die Zellen bei normaler Form und Größe in sehr guter Verfassung; sie waren sehr reich an Glykogen.

Wenn wir kurz diejenigen Punkte zusammenfassen, welche nach den ausführlichen Angaben in der Originalmitteilung allen auf 10-proz. Würzegelatine normal wachsenden, jungen, in den ersten Entwickelungsstadien befindlichen Riesenkolonieen der vier untersuchten Arten von untergäriger Bierhefe gemeinsam sind, sowie diejenigen, wodurch sich dieselben von einander unterscheiden und wie diese Verschiedenheiten die charakteristische Wachstumsform der verschiedenen Arten beeinflußt, so ergiebt sich Folgendes:

Die auf der Gelatine aufgetragene Hefe vermehrt sich, wobei jedoch die Intensität der Vermehrung mit Zellen, welche der Einsaathefe nach Form und Größe gleichen, bei den verschiedenen Hefen eine verschiedene ist und im allgemeinen die gleichen Verhältnisse wie bei der Vermehrung derselben auf der Oberfläche von Nährflüssigkeit bei der Hautbildung sich geltend machen. Sehr bald, wieder in völliger Uebereinstimmung mit den Vorgängen in den in den ersten Stadien der Kahmhautbildung auftretenden Hefeinselchen, kommt zn diesen ein neues Element, kleine rundliche und ovale Zellen hinzu, welche wieder in völliger Uebereinstimmung mit den Vorgängen in den Hefeinselchen sehr häufig gleichzeitig oder nahezu gleichzeitig in größerer Anzahl an einer Mutterzelle entstehen. Diese kleinen rundlichen und ovalen Zellen erzeugen langgestreckte Zellen, welche schließlich eine nicht unbeträchtliche Länge erreichen.

Die gestreckten Zellformen treten bei den verschiedenen Hefen in den Riesenkolonieen zu verschieden Zeiten auf und besteht auch nach dieser Richtung hin, wenn auch mit gewissen Modifikationen, wieder Uebereinstimmung zwischen den Vorgängen in den Riesenkolonieen und den Hefeninselchen. Bei Stamm 7 erscheinen dieselben später, wenn auch nicht so spät wie bei manchen Kulturen mit Nährflüssigkeit. Die Neigung von Stamm 7 zur Bildung der wurstförmigen Zellen ist also auch unter den Verhältnissen, unter welchen sich die Riesenkolonieen entwickeln, wenigstens anfangs gering.

Die Verteilung der verschiedenen Zellelemente ist in den jungen Riesenkolonieen der vier untersuchten Hefenarten die gleiche. Die gestreckt-wurstförmigen Zellen finden sich in den unteren Schichten des Hefebelages. In einem späteren Entwickelungsstadium treten sie in größerer Zahl zusammen und erscheinen zunächst an der Randpartie als einfach warzige, mehr weniger abgerundete oder als traubige Anhänge der Unterseite. Diese Anhänge wachsen von der Unterseite über den Rand des Hefebelages dichtgedrängt hervor, wodurch der Rand desselben aufgewulstet, sowie unregelmäßig wird, und breiten sich dann fächerförmig aus. Die „Ströme“[1]) der Randpartie der Kolonie sind also die nach der Gelatineoberfläche und über dieselbe hervorgewachsenen Anhänge, welche auf der Unterseite der Kolonie entstehen.

Mit dem Hervorbrechen der „Ströme“ erhält die Riesenkolonie erst das für die Hefenart charakteristische Gepräge. Je später bei den Hefen die gestreckt-wurstförmigen Zellen auftreten, desto später nimmt die Riesenkolonie die charakteristische Form an. Bei Stamm 7 stellen sich in den jungen Riesenkolonieen zwar ebenso rasch wie an den Hefeinselchen die Hautelemente ein, da aber nicht die zuerst auftretenden rundlichen und ovalen Zellen das Formgebende sind, sondern zunächst die gestreckt-wulstförmigen, so erscheint auch an den jungen Riesenkolonieen die charakteristische Wachstumsform später als bei denjenigen der anderen Hefen.

Sind die Anhänge einfach, warzig, so erscheinen die „Ströme“ ungeteilt; sind dieselben dagegen traubig, so erscheinen auch die „Ströme“ und damit die Randpartien der Riesenkolonieen vielfach gelappt. In demselben Maße, als sich die Randpartie ausbreitet, an Flächenausdehnung gewinnt, in demselben Maße entwickeln sich auch auf der Unterseite der Kolonieen die warzigen bezw. traubigen Anhänge weiter. Je größer diese Anhänge werden, desto mehr zeigen sie eine ausgesprochene Wachstumsrichtung nach dem Rande der Kolonie.

Im VI. Abschnitt (Wachstumsform der vier Hefen auf festen Nährböden, Zeitschr. ges. Brauw. XXI. Bd. 1898. p. 443) der vorliegenden vergleichenden Untersuchungen habe ich folgendes ausgeführt.

(S. 520): „Schon bei den Vorversuchen wurde wiederholt die Beobachtung gemacht, daß die Kolonieen die in den ersten Tagen, in den ersten Phasen der Entwickelung erlangte Form nicht beibe-

1) Ich bezeichne damit die von der Unterseite des Hefebelages hervorquellenden traubigen und warzigen Anhänge.

halten, sondern daß an denselben nach einer geringeren oder größeren scheinbaren Ruhepause Veränderungen auftraten, welche im Laufe der Zeit deren Form in der weitgehendsten Weise beeinflussen."

„Diese Veränderungen der Form tritt bei allen Wachstumstypen auf."

„Beachtenswert und, wie mir scheinen will, für das Verständnis der Erscheinungen des „Auswachsens" wichtig ist der Parallelismus, welcher zwischen dem Auswachsen der Kolonieen auf festen und der Kahmhautbildung auf flüssigem Substrate besteht. Diejenigen Hefen, welche wie Stamm 7 und 6 auf Flüssigkeit sehr leicht die Kahmhautgenerationen entwickeln, wachsen auf der Würze- und Biergelatine meist sehr frühzeitig und leicht aus. Stamm 93, welcher sehr schwer die Kahmhautzellen 1. Generation ausbildet, wächst auch meist nur mit wurstförmigen, den Kahmhautzellen 2. Generation ähnlichen Zellen aus.

Bei Stamm 7 dagegen findet wieder in Uebereinstimmung mit den Erscheinungen bei der Kahmhautbildung auf Flüssigkeiten ein Auswachsen mit wurstförmigen und mycelfadenartigen Zellen seltener als bei den übrigen Hefen statt."

„In ganz hervorragender Weise zeichnet sich Stamm 6 durch ein leichtes und bei fortgesetzter Beobachtung sehr umfangreiches Wachstum aus".

„Aus sämtlichen Beobachtungen hat sich die Anschauung herausgebildet, daß es sich bei den beschriebenen Veränderungen der Kolonieen nur um Kahmhautbildung auf festem Substrat handelt, welche gemäß den geänderten Verhältnissen mit gewissen Modifikationen auftritt. Die erste Phase des Auswachsens würde der Entwickelung der Kahmhautzellen 1. Generation, die zweite derjenigen der Entwickelung der Kahmhautzellen 2. Generation entsprechen. Wenn in der ersten Phase des Auswachsens auch schon wurstförmige Zellen auftreten, so hat dies durchaus nichts Befremdliches, nachdem ja auch, wie schon früher ausgeführt, Kahmhautzellen 1. Generation wurstförmig werden können. Das eingehende Studium der Riesenkolonieen hat aber auch dazu geführt, eine Analogie zwischen diesen und dem Auswachsen der Kolonieen auf festem Substrat herauszufinden."

In der That dürfte es nach der gegebenen Beschreibung der verschiedenartigen Zellen, welche sich in den allmählich heranwachsenden Riesenkolonieen finden, und deren teilweise charakteristische Entstehungsweise, sowie auch der Entstehung der „Ströme" kaum ein Bedenken erregen, wenn wir die ausgewachsenen Kolonieen, welche aus Einzellkulturen hervorgegangen sind, als infolge der besonderen Kulturbedingungen verkümmerte Riesenkolonieen bezeichnen. Die in der ersten Phase des Auswachsens noch verhältnismäßig wenigen Tagen über den Rand der ursprünglichen Kolonie hervorbrechenden Sproßverbände, welche die nach dem Typus I wachsenden Kolonieen überhaupt unregelmäßige und die nach dem Typus III wachsenden noch unregelmäßigere Formen als vorher annehmen lassen, würden dann, wenigstens teilweise, den Anhängen der Unterseite der Riesenkolonieen bezw. den aus diesen

hervorgehenden „Strömen“ entsprechen. Hier wie dort haben wir es, wie außerdem für den letzteren Fall auch noch durch einen speciellen Versuch nachgewiesen wurde, ebenso mit luftliebenden Zellen zu thun, wie das ja auch bei den Hautzellen auf Nährflüssigkeit der Fall ist. Außerdem ist es ja bekannt, daß man selbst bei der geringsten Einsaat, wie sie zufällig zuweilen durch das Verspritzen kleinster Tröpfchen entstehen kann, Riesenkolonieen mit der charakteristischen Wachstumsform der Randpartie erhält, wenn auch im übrigen ihre Form durch ein starkes Wachstum in der Höhenrichtung gegenüber den Kolonieen aus stärkerer Einsaat modifiziert erscheint und die Kolonie Kegel- oder Cylinderform annimmt.

Die geringere, den einzelnen Kolonieen zur Verfügung stehende Menge an Nährstoffen wird wohl in erster Linie die Ursache sein, daß die Kolonieen in der Böttcher'schen feuchten Kammer im allgemeinen verkümmern und nicht schließlieh die charakteristische Wachstumsform annehmen, wenngleich beispielsweise bei Stamm 6, welcher so rasch in ausgiebiger Weise auswächst, die Bedingungen hierzu gegeben wären. Als zweiter Faktor kommt dann wahrscheinlich eine für die Entwickelung der die Anhänge und die „Ströme“ erzeugenden Zellen nicht völlig genügende Luftmenge hinzu. Wenn oben einerseits angegeben wurde, daß die charakteristische Wachstumsform der Randpartie, die Bildung der „Ströme“ erst dann zustande kommt, wenn gestreckt wurstförmige Zellen vorhanden sind und andererseits die über den Rand der Einzellkolonieen hervorbrechenden Sproßverbände meist, wenigstens anfangs, aus mehr weniger rundlichen Zellen bestehen, so steht dies mit der Auffassung, daß wir es in diesen Sproßverbänden mit einer den Anhängen an der Unterseite und den „Strömen“ analogen Bildung zu thun haben, nicht in Widerspruch. Es ist zu berücksichtigen, daß bei der größeren Hefenmenge, welche bei der Anlage der Kulturen zur Entwickelung von Riesenkolonieen zur Aussaat gelangt und bei der mehr oder minder starken Vermehrung derselben, die Kahmhautzellen 1. Generation zunächst sich wesentlich innerhalb des Hefebelages entwickeln und von diesen verdeckt werden. Erst später, wenn sie die Oberhand gewonnen und auch die gestreckt wurstförmigen Zellen in größerer Zahl gebildet sind, kommen sie auch äußerlich zur Geltung. Andererseits haben aber lange Zeit fortgesetzte Beobachtungen ergeben, daß die ovalen Zellen der in der ersten Phase des Auswachsens entstehenden Sproßverbände früher oder später ebenfalls in gestreckt-wurstförmige übergehen. Besonders schön wurde dies bei Einzellkolonieen, welche aus Bodensatzhefe auf Würzegelatine hervorgegangen waren, beobachtet.

Es ist auf diese Verhältnisse bereits in der Erklärung zu Fig. 20 der Tafel I zum VI. Abschnitt der vergleichenden Untersuchungen (Zeitschr. ges. Brauw. 1898. p. 21) hingewiesen. Die Uebereinstimmung der „auswachsenden“ Einzelkolonieen mit den Riesenkolonieen wird noch dadurch vervollständigt, daß auch die zweite Phase des Auswachsens unter Umständen an den Riesenkolonieen

in charakteristischen Veränderungen der Form in die Erscheinung treten kann.

Es handelt sich also bei dem Auswachsen der Einzellkolonieen nur um eine durch die speciellen Kulturbedingungen modifizierte und schließlich verkümmerte Bildung von Riesenkolonieen, im Wesen sind jedoch die ausgewachsenen Einzellkolonieen mit den Riesenkolonieen identisch.

Referate.

Fischer, Ed., Fortsetzung der entwickelungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. (Berichte der schweiz. bot. Ges. 1901. Heft 11. p. 1—14.)

3) Früher hat Fischer mit den Aecidiosporen ein und desselben Peridermium Cornui sowohl Vincetoxicum officinale, wie Paeonia tenuifolia infiziert und es dadurch sehr wahrscheinlich gemacht, daß Cronartium asclepiadeum und Cr. flaccidum identisch sind. Der Idenditätsnachweis wird nunmehr vervollständigt durch den Bericht über Infektionen von Paeonia mit Urdosporen von Vincetoxicum officinale, die in großer Anzahl gelungen sind. Es besteht somit kein Zweifel mehr, daß Cronartium asclepiadeum und flaccidum identisch sind.

4) Durch die Nähe des Fundortes von Aecidium Actaeae und einer Puccinia auf Poa nemoralis und Agropyrum caninum kam Fischer auf die Vermutung eines Zusammenhanges dieser Pilzformen. Infektionsversuche ergaben die Möglichkeit der Uebertragung der Puccinia von Agropyrum caninum auf Actaea spicata. Eine Rückübertragung gelang bisher noch nicht, da Agropyrum caninum nicht benutzt werden konnte und A. repens versagte. Diese Puccinia, die neu ist und vom Verf. P. Actaeae-Agropyri benannt wird, steht den übrigen Gramineen- und Ranunculaceen-bewohnenden Arten nahe; besonders gilt dies für die auf Thalictrum vorkommende Art, welche Fischer für Puccinia persistens Plowr. anspricht. Infektionsversuche von Agropyrum auf Thalictrum gelangen jedoch nicht.

5) Die gelegentliche Beobachtung einer spontan aufgetretenen Infektion von Carex hirta in mitten zahlreicher anderer Carex-Arten läßt es höchst wahrscheinlich erscheinen, daß die auf Carex hirta vorkommende Puccinia, welche als zweite Nährpflanze Urtica dioica hat, auf diese Art angewiesen ist und nicht identisch ist mit der von Schröter auf Carex riparia und der von Fischer auf Carex ferruginea beobachteten Form.

6) Nachdem Infektionsversuche mit Puccinia Buxi im Frühjahr 1899 keinen Erfolg hatten, wurden sie im Mai 1900 wiederholt, und zwar wurde dazu frisches Teleutosporenmaterial benutzt. Diesmal ergab sich ein Erfolg, welcher bewies, daß das Wachstum der P. Buxi das einer Leptopuccinia mit langsamer Ent-

wickelung der Teleutosporenlager ist. Die am 14. Mai ausgeführten Infektionen ließen erst am 25. Juni die ersten Spuren einer Veränderung des Gewebes erkennen; am 31. Oktober waren vereinzelte Sporenlager hervorgebrochen. Die Deformation der Blätter besteht hauptsächlich in einer Verdickung der Blattfläche, welche hauptsächlich durch eine starke Verlängerung der Pallisadenzellen und einer starken Anschwellung der Schwammparenchymzellen zu Stande kommt. Appel (Charlottenburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Lüstner, G., Eine neue Lampe zum Fangen der Schmetterlinge des Heu- und Sauerwurmes. (Mitt. über Weinbau u. Kellerwirtsch. 1902. No. 5. p. 69—73.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bab, A., Der Korbwurm (Aeceticus platensis). (Naturwissensch. Wochschr. 1902. No. 31. p. 364—365.)

Babcock, S. M., Russell, H. L., Vivian, A. and **Hastings, E. G.**, Influence of sugar on the nature of the fermentations occurring in milk and cheese. (18. ann. rep. of the agricult. experim. stat. of the University of Wisconsin. Madison 1901. p. 162—176.)

Hennings, P., Fungi nonnulli novi ex regionibus variis. (Beibl. z. Hedwigia. 1902. No. 2. p. 61—66.)

— —, Ueber einige auf Andromeda polifolia L. beobachtete Pilze. (Verhandl. d. botan. Vereins d. Prov. Brandenburg. 1902. p. 102—104.)

Kieffer, J. J., Notes sur les cynipides. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1901. No. 19. p. 343—344.)

Klöcker, A., Gymnoascus flavus n. sp. Hedwigia. 1902. Heft 2. p. 80—83.)

Léger, L., Sur la forme grégarinienne des Herpetomonas. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 12. p. 400—401.)

— —, Sur la structure et le mode de multiplication des flagellés du genre Herpetomonas Kent. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 14. p. 781—784.)

Ranojevic, N., Beitrag zur Pilzflora Serbiens. (Hedwigia. 1902. Heft 2. p. 89—96.)

Sydow, H. et **P.**, Einige neue Uredineen. I. (Oesterr. botan. Ztschr. 1902. No. 5. p. 182—185.)

Trotter, A., Description de deux cynipides nouveaux. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1901. No. 9. p. 175—176.)

Uyeda, Y., Ueber den Benikoji-Pilz aus Formosa. [Vorl. Mitt.] (Botan. magaz. Tokyo 1901/2. Vol. XV. No. 178. Vol. XVI. No. 179. Abdr. 7 p. m. 1 Taf. gr. 8°.)

Webster, F. M., The common cheese mite, Tyroglyphus Siro, living in Sporotrichum globuliferum. (32. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1901. Toronto 1902. p. 73—74.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Milch, Molkerei.

Harding, H. A., Rogers, L. A. and **Smith, G. A.**, Notes on some dairy troubles. (19. ann. rep. of the Board of control of the New York agric. exper. stat. for 1900. Albany 1901. p. 29—51.)

Russell, H. L. and **Hastings, E. G.**, On the increased resistance of bacteria in milk pasteurized in contact with the air. (18. ann. rep. of the agricult. experim. stat. of the University of Wisconsin. Madison 1901. p. 185—194.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Lesguillon, Empoisonnement vraisemblablement attribuable à l'ingestion de conserves de sardines à l'huile. (Recherches bactériologiques.) (Gaz. hebdom. de méd. et de chir. 1902. No. 20. p. 221—224.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Dunbar, Zur Abwasserreinigungsfrage. Erwiderung auf den offenen Brief des Herrn Geheimrat Prof. Dr. Dünkelberg in No. 24 d. vor. J. dies. Ztschr. (Techn. Gemeindebl. 1902. No. 2. p. 17—20.)

Gastpar, Die Wohnungsdesinfektion in Stuttgart. (Med. Korrespdzbl. d. Württemb. ärztl. Landesver. 1902. No. 16. p. 255—257.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Anderson, A. P., Tilletia horrida Tak on rice plant in South Carolina. (Bullet. of the Torrey botan. club. Vol. XXIX. 1902. No. 1. p. 35—36.)

Berlese, A., Nuova maniera di lotta contro gli insetti nocivi e particolarmente contro la Cochylis ambiguella (ed Eudemis botrana). (Bollett. uffic. d. Minist. d'agricol., industr. e commerc. Vol. II. 1902. fasc. No. 5. p. 827—834.)

Brzezinski, P. P., Etiologie du chancre et de la gomme des arbres fruitiers. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 20. p. 1170—1173.)

Heinricher, E., Notiz zur Frage nach der Bakterienfäule der Kartoffeln. (Ber. d. dtsch. botan. Gesellsch. 1902. Heft 3. p. 156—158.)

Henricourt, J., La vacunacion de las plantas contra las enfermedades criptogamicas. (Bol. d. Inst. fisico-geogr. Costa-Rica. 1901. No. 9. p. 254—256.)

Jurie, A., La pourrifure grise et l'éclatement du raisin. (Vigne amér. 1902. No. 4. p. 112—115.)

Laborde, J., Sur la destruction de certains insectes nuisibles en agriculture et notamment de la Chenille fileuse du prunier. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV, 1902. No. 20. p. 1149—1151.)

Portele, K., Bericht über die im Schutzdienste gegen die Reblaus im Herbste 1901 und im Frühjahre 1902 in Tirol durchgeführten technischen Arbeiten. (Weinlaube. 1902. No. 22, 23. p. 257—259, 268—270.)

Schäff, E., Die Feldmaus und ihre Vertilgung. (Landwirtschaftl. Ztschr. f. d. Rheinprov. 1902. No. 17. p. 194—196.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 8. August 1902. **No. 5.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark. Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber einige psychrophile Mikroorganismen und ihr Vorkommen.

[Aus dem Institute für Hygiene und Bakteriologie in Straßburg.]

Von Dr. **Sigval Schmidt-Nielsen**, Bergen (Norwegen).

Psychrophile Bakterien, d. h. Bakterien, die die Fähigkeit besitzen, beim Gefrierpunkt des Wassers sich nicht allein am Leben zu erhalten, sondern sich bei dieser Temperatur auch zu vermehren und ihre Thätigkeit zu entfalten, sind zuerst von Forster be-

schrieben worden. Er teilt im Jahre 1887[1]) mit, daß diese Fähigkeit phosphorescierenden Bakterien aus dem Meere zukommt. Bei späteren Untersuchungen fand Forster[2]), daß derartige Bakterien, auch nichtleuchtende Arten, überall in unserer Umgebung verbreitet sind. Fischer[3]) hat auch beobachtet, daß psychrophile Bakterien reichlich im Wasser und Erde verbreitet sind, er hat so z. B. 14 Arten isoliert, deren Namen jedoch nicht festgestellt worden sind.

Ob nun das Wachstum bei 0° auch anderen Mikroorganismen als Bakterien zukommt, ist bisher nicht näher untersucht. Ebenso wissen wir auch nicht, welche von den bekannten Bakterien gerade diese Eigenschaft besitzen.

Gelegentlich eines Aufenthaltes im Straßburger hygienischen Institute habe ich nun im Jahre 1901 eine Reihe von Bakterien in dieser Richtung geprüft. Obwohl ich verhindert wurde, die Versuche abzuschließen, so dürften die erhaltenen Resultate immerhin einiges Interesse darbieten, und gestatte ich mir daher, sie in Kürze hier mitzuteilen.

Bei 0° wächst von Bakterien u. a.:

1) B. aquatile fluorescens non liquefac. (aus Straßburger Wasserleitung) sehr gut in 10 Tagen.

2) B. granulosum (Kayser) — (aus Straßburger Wasserleitung) sehr gut in 40 Tagen.

3) B. paracoli gasoformans anindolicum (Straßburger Wasserleitung) sehr schwach in 40 Tagen.

4) B. radiatum (aus Wasserleitung) schwach in 10, kräftig in 40 Tagen.

5) B. tarde fluorescens (aus Straßburger Wasserleitung) schwach in 40 Tagen. Ferner nach Forster der (6) Pestbacillus, nach Conradi[4]) der (7) B. proteus fluorescens.

Aus Erde und Gemüsen habe ich mit großer Leichtigkeit 15 verschiedene Arten, deren Bestimmung ich durch einen Unfall nicht abschließen konnte, isolieren können.

Von Hefen habe ich bei 0° von Saccharomyces Pastorianus I E. Chr. H., den ich gütigst vom Karlsberglaboratorium (Dir. Prof. Dr. E. Chr. Hansen) bekam, in 17 Tagen schönes Wachstum auf Bierwürzegelatine erhalten. (Dieser Stamm war bei Prof. Hansen längere Zeit im Eisschranke gezüchtet worden.)

---

1) Forster, I., Ueber einige Eigenschaften leuchtender Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. II. 1887. p. 337.)

2) Forster, I., Ueber die Entwickelung von Bakterien bei niederen Temperaturen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. 1892. p. 431.)

3) Fischer, B., Bakterienwachstum bei 0° C u. Photographieren von Kulturen leuchtender Bakterien in ihrem eigenen Lichte. (Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. IV. 1888. p. 89.)

4) Conradi, H. und H. Vogt. Ein Beitrag zur Aetiologie der Weil'schen Krankheit. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XXXVII. p. 287.)

Ein anderer Stamm des Saccharomyces Pastorianus I, den ich freundlichst von Dr. Alfred Jörgensen bekam, zeigte dagegen selbst in 40 Tagen kein Wachstum, auch konnte ich nicht Saccharomyces Cerevisiae zum Wachstum bringen. Dagegen wuchs eine rote Torula, die ich im Jahre 1899 von der Oberfläche der Tiefwassergarnelen (Pandalus Borealis) gezüchtet und isoliert hatte, auf Kartoffelscheiben in 50—60 Tagen bei 0° zu einer üppigen Kultur.

Von Aktinomyceten wuchsen

Act. ochraceus
„ carneus α (Neukirch) (5)
„ ochroleucus (Neukirch) (5)

binnen 80 Tagen nur zu kleinen Kolonien heraus. Als sie nachher bei 24° gehalten wurden, entwickelten sie sich in 10—14 Tagen sehr kräftig.

Die folgenden Bakterien wuchsen nicht bei 0°.:

1) 2 verschiedene phosphorescierende Bakterien, die ich aus dem Darme von einem Dornhai (Spinax. niger) gezüchtet.

Eine Reihe von Fleichvergiftungsbakterien; die im Eisschranke (bei 3—5°) gut gedeihen, wuchsen ebenfalls nicht im Eiskalorimeter; hierzu gehören

2) B. coli commune (virulent aus Fleisch).
3) B. enteritidis Gärtner
4) Fleichvergiftungsbacillus von Abel
5) „ „ Friedebergensis
6) „ „ Gärtner
7) „ „ von Gaustad in Norwegen (P. F. Holst)
8) Käsevergiftungsbacillus aus Christiania (Backer)
9) B. morbificans bovis
10) B. Breslaviensis.

Sämtliche Kulturen wurden 60 Tage lang im Eiskalorimeter gehalten, ohne daß in dem geimpften Nährmedium (schräg erstarrte Gelatine) ein Wachstum erkannt werden konnte. Nachher entwickelten sie sich bei 24° kräftig in 6 Tagen.

Ferner habe ich die früheren Befunde von Forster, daß Cholera-, Milzbrand- und Typhusbacillen sich bei 0° nicht entwickeln, bestätigen können.

1) H. Neukirch, „Ueber Actinomyceten“ (eine Arbeit, die nächstens aus dem gleichen Institute erscheinen wird).

Untersuchungen über die Arteinheit der Knöllchenbakterien der Leguminosen und über die landwirtschaftliche Bedeutung dieser Frage.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Halle a. S. Direktor Prof. Dr. Fränkel.]

Von Privatdocent **Dr. phil. H. Buhlert,**

Assistent am landwirtschaftl. Institut der Universität.

Fast alle die Forscher, welche die Beziehungen der Knöllchenbakterien zu den Leguminosen zum Gegenstande ihrer Arbeiten gemacht haben, hat auch die wissenschaftlich hochinteressante, für die praktische Landwirtschaft äußerst wichtige Frage beschäftigt, ob die die Knöllchen bei den verschiedenen Leguminosen-Species erzeugenden Bakterien sämtlich einer oder aber mehreren Arten angehören.

So berührte schon Hellriegel, als er im Jahre 1886 gelegentlich der Naturforscherversammlung zu Berlin[1]) die ersten Mitteilungen über die von ihm und seinem Mitarbeiter Wilfarth entdeckte Symbiose zwischen den Papilionaceen und gewissen Mikroorganismen machte, auch kurz, ohne allerdings für oder wider die eine oder die andere Auffassung Stellung zu nehmen, diese Frage, indem er anführte, daß bei verschiedenen Papilionaceen nur der Zusatz von gewissen Bodenarten Knöllchen bildend und Wachstum fördernd wirke. Wie wir aus ihrer bekannten Veröffentlichung vom Jahre 1888[2]) ersehen, hatten die beiden Forscher beobachtet, daß der Aufguß von einem und demselben Boden die Vegetation verschiedener Leguminosen ganz ungleich beeinflußte; so vermochte z. B. der Aufguß von gutem Rübenboden des Versuchsfeldes das Wachstum der Erbsen in stickstofflosem Boden vortrefflich zu fördern, während er auf die Entwickelung der Serradella und der Lupine vollständig wirkungslos blieb. An anderen Orten fügen sie hinzu: „Wenn es wahr ist, worauf alle unsere Versuche mit großer Uebereinstimmung hinweisen, daß das Gedeihen der Leguminosen in stickstofflosem oder stickstoffarmem Boden auf eine Symbiose mit bestimmten Arten von niederen Pilzen zurückzuführen ist, so wird es keine Schwierigkeit haben, anzunehmen, daß diese verschiedenen Arten, wenn ihre Verbreitung im Kulturboden auch eine allgemeine ist, in verschiedenen Bodenarten doch in ungleicher Menge auftreten, und daß z. B. diejenigen Organismen, welche mit der Lupine und Serradella in näherer Beziehung stehen, in dem hiesigen, von uns zu den Aufgüssen benutzten Lehmmergelboden sehr spärlich, in dem von auswärts bezogenen Sandboden

1) Hellriegel: Welche Stickstoffquellen stehen den Pflanzen zu Gebote? (Tageblatt der 59. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Berlin 1886.)

2) Hellriegel und Wilfarth: Untersuchungen über die Stickstoffnahrung der Gramineen und Leguminosen. (Beilageheft zu der Zeitschrift des Vereins für Rübenzuckerindustrie des deutschen Reiches. Berlin 1888.)

sehr reichlich vorhanden — nicht weil dieser ein Sandboden und jener ein Lehmboden war — sondern einfach deshalb, weil wir den Sandboden von einem gut mit Lupinen bestandenen Felde, den Lehmboden aber von einem Rübenacker gewonnen hatten, welcher noch niemals Lupinen oder Serradella (sozusagen die Nährpflanzen der betreffenden Pilze) getragen hatte.“

Eingehend wird die Frage der Arteinheit dann von Beijerinck[1]) in seiner Arbeit »Die Bakterien der Papilionaceen-Knöllchen“ erörtert. Beijerinck ist geneigt, zwei große Gruppen aufzustellen, deren erste die Bakterien der Knöllchen von Vicia Faba, Vicia Narbonensis, Vicia sativa, Vicia Cracca, Vicia hirsuta, Ervum Lens, ferner Medicago, Genista, Melilotus, Trifolium und Lathyrus umfaßt. In der Hauptsache charakterisiert er sie folgendermaßen: „Die größeren Kolonieen mehr hyalin, Wachstum auf Fleischwasserpeptongelatine schwierig oder überhaupt ausbleibend, durch Rohrzucker und Dextrose gefördert, Schwärmer sehr klein, Bakteroiden zweiarmig oder kugelig oder birnförmig, Meristem immer in den Knöllchen gegenwärtig, primäre Rinde der Knöllchen geschlossen, Schleimfäden deutlich.“ Zur zweiten Gruppe rechnet er drei Typen, den Phaseolus-, Lupinus- und Robinia-Typus. „Kolonieen mehr trüblich weiß, Wachstum auf Fleischwasserpeptongelatine etwas ausgiebiger, wie bei der ersten Gruppe. Schwärmer mehr stäbchenförmig, gewöhnlich länger. Bakteroiden bakterienähnlich, selten verzweigt. Schleimfäden fehlen oder sind nur wenig entwickelt. In den Knöllchen meist kein Meristem (Ausnahme Robinia).“ Jedoch genügen alle diese Merkmale nicht, um sichere Grenzen zwischen den beiden Gruppen zu ziehen, denn wie Beijerinck hervorhebt, zeigt sich einerseits Verschiedenheit zwischen Kolonieen, die einem und demselben Knöllchen entstammen, andererseits Uebereinstimmung der aktiveren aus verschiedenartigen Knöllchen (der beiden Gruppen). Ferner verschwindet, was Beijerinck besonders beachtenswert erscheint, jede in den Kolonieen bemerkbare Verschiedenheit gänzlich bei der Kultur in Nährlösung, mag es sich nun um Bakterien eines einzelnen Knöllchens oder verschiedener Knöllchen der nämlichen Art oder endlich um solche aus Knöllchen verschiedener Arten handeln. Weil eben die Schwierigkeiten einer Abgrenzung so groß sind, entscheidet sich Beijerinck schließlich endgültig für die Arteinheit sämtlicher Knöllchenbakterien. Seiner Ueberzeugung hat er, wie er selbst anführt, dadurch Ausdruck gegeben, daß er den bekanntlich von ihm zuerst gezüchteten und beschriebenen Mikrobien den einheitlichen Namen Bacillus radicicola beigelegt hat. Immerhin erscheint es ihm aber doch notwendig, wegen der in gewisser Hinsicht auftretenden, sogar erblichen Differenzen in den einzelnen Formen der Bakterien der verschiedenen Herkunft durch Varietätsnamen Rechnung zu tragen.

Später ausgeführte Infektionsversuche[2]) bestimmen Beijerinck indessen seine Ansicht zu modifizieren. Als er nämlich

1) Botanische Zeitung. 1888.

2) Beijerinck: Künstliche Infektion von Vicia Faba mit Bac. radicicola. (Bot. Zeitung 1890.)

Vicia Faba mit Faba-Bakterien infizierte, erzielte er Knöllchen; wenn er jedoch für dieselbe Pflanze Bakterien aus den Knöllchen von Ornithopus sativus verwendete, hatte die Infektion keinen Erfolg. Diese Resultate veranlassen ihn, auszusprechen, daß der Unterschied zwischen den verschiedenen Bakterien der Papilionaceen doch größer sei, als er früher angenommen habe; augenscheinlich gehöre Bacillus Ornithopi zu einer anderen Art als Bacillus Fabae.

Im selben Jahre, wie die letzte Veröffentlichung Beijerincks erschien eine Arbeit von Frank[1]) „Ueber die Pilzsymbiose der Leguminosen." Was die vorliegende Frage betrifft, so tritt Frank für die Arteinheit ein. Er begründet seine Ansicht damit, daß die Symbiose nicht nur über die ganze Erde verbreitet ist, sondern daß die einzelnen Species der Leguminosen auch ausnahmslos auf den verschiedensten Standorten und Bodenarten, wo sie nur irgend in der Natur vorkommen, ihre Knöllchenpilze antreffen, insbesondere, daß unsere angebauten Leguminosen auf allen Kulturböden ohne Ausnahme mit Knöllchen behaftet gefunden werden. Schon diese Thatsachen lassen sich schlecht zusammenreimen mit der Annahme, daß jede der ungefähr 6000 Leguminosen-Species, welche es auf der Erde giebt, ihren eigenen Symbiosepilz besitzen solle. Ganz unvereinbar damit erscheint ihm aber der Umstand, daß man an verschiedenen Leguminosen, die man nebeneinander auf einem und demselben Boden aussät, regelmäßig die Wurzelknöllchen entstehen sieht. Um seine Behauptungen durch Versuche zu stützen, wandte Frank für Lupinen, die er in Töpfen gezogen hatte, Impferden verschiedener Herkunft an. Diese wirkten aber nicht in gleicher Weise; durch eine Impferde von den Lupitzer Lupinenwiesen wurden sehr typische Knöllchen an der Pfahlwurzel erzeugt, während die beiden anderen Impferden, humusloser, heller, reiner Sand und Wiesenmoorboden nur wenige kleine Knöllchen an einigen Seitenwurzeln hervorriefen. Jedoch glaubt Frank durch diese Versuche seine Anschauung trotzdem bestätigt zu haben. Die ungleiche Wirksamkeit der verschiedenen Impferden erklärt er damit, daß die Keime des Rhizobiums (Frank's Benennung des Bac. rad.) in den verwendeten 4 gr. Bodensubstanz in sehr ungleicher Menge vorhanden waren.

Aber ihm selber kommen dann doch Bedenken, ob diese Erklärung ganz zutreffend sei. Er hält es auch für nicht ausgeschlossen, daß die Kraft, welche das Rhizobium auf die Pflanzen ausübt, je nach den verschiedenen Bodenarten verschieden sein könne. Einmal könne man sich vorstellen, daß der Pilz in einem Boden, in welchem er Jahre lang keine Leguminose fände, sozusagen aus Mangel an Uebung seine Kraft zu gebrauchen verlerne, andererseits daß er dort, wo die fortwährende Kultur einer bestimmten Leguminose statthätte, sich für diese Species außerordentlich wirkungskräftig, für andere Leguminosen, zunächst wenigstens minder tüchtig erweise. Mit dieser Annahme brauche jedoch nicht eine spezifische Verschiedenheit des Rhizobiums je nach Leguminosen-

1) Landwirtsch. Jahrbücher. 1890.

Arten behauptet zu sein, sondern es würde sich nur um die Züchtung von Varietäten oder Rassen des allgemeinen Mikrobiums handeln. Zum Schlusse hebt Frank aber doch wieder hervor, daß sich der verschiedene Erfolg mit den drei Impferden vollkommen genügend durch die ungleiche Häufigkeit des Rhizobiums in denselben erklären ließe.

Der chronologischen Reihenfolge nach wäre jetzt die erste der zahlreichen Veröffentlichungen von Nobbe und Hiltner über diesen Gegenstand zu erwähnen. Es wird jedoch zweckmäßiger sein, alle diese Arbeiten im Zusammenhang zu behandeln und zunächst die Mitteilungen einiger anderer Autoren zu besprechen. Dieses Verfahren wird sich um so mehr empfehlen, als ein näheres Eingehen auf diese letzteren kaum erforderlich ist, weil die betreffenden Forscher keine speziellen Untersuchungen über die Frage der Arteinheit angestellt haben, sondern sie gewissermaßen nur gelegentlich einer Erörterung unterziehen.

So konstatierte Salfeld[1]), als er im Jahre 1892 auf neu kultiviertem Hochmoorboden zu einem Gemisch von Pferdebohnen und grauen Erbsen Impferde verschiedener Herkunft verwendete, eine sehr gute Wirkung des Erbsensandes, während Seeschlick und Lupinensand ganz versagten. Er glaubt daher die Theorien Nobbes und Hiltners, von denen er erst nach Beendigung seiner Versuche Kenntnis erhielt, bestätigen zu können, daß nämlich die aus den Knöllchen verschiedener Leguminosen stammenden Bakterien in ihrer physiologischen Wirkung Unterschiede zeigen, die nur durch die Annahme erklärt werden können, daß dieselben, wenn nicht verschiedene Arten oder Varietäten, so doch mindestens Rassen- oder Ernährungs-Modifikationen repräsentieren. Auch bei späteren Versuchen mit Impferden erhielt Salfeld den obigen ähnliche Resultate.

Als entschiedener Gegner der Arteinheit ist Gonnermann[2]) zu nennen; aber seine Ergebnisse sind auf Grund so wenig einwandfreier Versuche gewonnen, daß sie wohl keinen Anspruch auf Beachtung haben.

Gewichtiger sind die Gründe, welche Kirchner[3]) gegen die Arteinheit anführt. Er fand nämlich, daß die Sojabohne im Garten zu Hohenheim erst nach einer Impfung mit Erde aus Japan Knöllchen bildete, während sie bis dahin knöllchenfrei geblieben war, obwohl sie ihren Standort zwischen zahlreichen anderen Leguminosen mit normalen Knöllchen hatte. Kirchner glaubt deshalb, zum mindesten diejenigen Bakterien, welche bei der Sojabohne Knöllchenbildung veranlassen, für eine von unseren einheimischen Knöllchenbakterien verschiedene Art ansehen zu sollen. Seinen Beobachtungen stehen indessen die von andern Forschern gemachten gegenüber; so sah Cohn, wie Kirchner selbst anhangsweise

1) Deutsche landwirtsch. Presse. 1892. S. 647.
2) Gonnermann, Die Bakterien in den Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Landwirtsch. Jahrbücher [1894]).
3) Kirchner, Die Wurzelknöllchen der Sojabohne. (Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen [1895]).

mitteilt, im botanischen Garten zu Breslau die Sojabohne ohne Impfung Knöllchen bilden; auch bei Naudin[1]) findet sich dieselbe Notiz.

Endlich ist noch Mazé[2]) zu erwähnen, der namentlich auf Grund der Beobachtung der natürlichen Verhältnisse zu dem Schlusse gelangt, daß zwei große physiologische Gruppen der Leguminosen-Bakterien zu unterscheiden seien. Nach seiner Anschauung haben sich die Bakterien an die Reaktion des Bodens angepaßt, sodaß alle diejenigen, welche in Kalkböden leben, fähig sind, in alle einheimischen Kalkpflanzen einzudringen, diejenigen jedoch, welche die sauren Böden bevölkern, bei den kalkfeindlichen Leguminosen, z. B. den Lupinen und dem Ginster Knöllchen hervorrufen.

Durch die bisher genannten Forscher ist also die Frage der Arteinheit keineswegs geklärt worden. Hellriegel und Wilfarth streiften sie ja nur, wie ich oben anführte, und hatten von vornherein nicht die Absicht, des Näheren auf sie einzugehen.

Beijerinck, der in seiner ersten Arbeit so außerordentlich umfangreiche und genaue Untersuchungen sowohl über die Morphologie der Knöllchen und der Bakterien als auch über die Biologie der letzteren mitteilte, weist selber darauf hin, daß erst wechselseitige Infektionsversuche eine definitive Entscheidung bringen könnten. Zwei Jahre später stellte er denn auch, indem er, wie erwähnt, Vicia Faba einmal mit Bakterien der eignen, dann einer anderen Art infizierte, einige solche Uebertragungen an, beließ es aber bei diesen, ohne eine Entscheidung bewirkt zu haben.

Den übrigen Forschern lag wie Hellriegel und Wilfarth eine spezielle Bearbeitung der Frage der Arteinheit ebenfalls fern. Den Versuchen aller haftet außerdem der Fehler an, daß zur Impfung nicht Bakterien-Reinkulturen, sondern entweder Impferde oder Erdauszüge verwendet wurden. Bei Benutzung dieser Mittel operiert man aber immer mit einem unbekannten Faktor, da man niemals sicher sein kann, ob die Bakterien, welche man prüfen will, überhaupt in dem Boden bezw. dem Auszuge vorhanden sind, oder ob nicht allein sie, sondern daneben auch solche Bakterien sich finden, deren Gegenwart man gerade auszuschließen bestrebt ist.

Diesem fundamentalen Mangel gingen als die ersten (abgesehen von Beijerinck) Nobbe und Hiltner[3]) aus dem Wege, da sie in der Hauptsache die Reinkulturen der Knöllchenbakterien

1) Compt. rend. 1896. p. 287.

2) Annales de l'institut Pasteur. 1899. p. 145.

3) Versuche über die Stickstoffassimilation der Leguminosen. (Landwirtsch. Versuchsstationen [1891.])

Ueber die Verbeitungsfähigkeit der Leguminosenbakterien. (Ebenda 1892.)

Wodurch werden die Knöllchen besitzenden Leguminosen befähigt, den freien atmosphärischen Stickstoff für sich zu verwenden? (Ebenda 1893.)

Versuche über die Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen, insbesondere über die Frage der Arteinheit derselben. (Ebenda 1895.)

zu ihren Versuchen benutzten, somit die Bahn betraten, auf die Beijerinck hingewiesen hatte; und ohne Zweifel ist durch ihre Arbeiten die vorliegende Frage der Lösung um ein beträchtliches Stück näher gebracht worden. Bei der entscheidenden Bedeutung ihrer Ermittelungen werden dieselben eine etwas genauere Besprechung erfahren müssen.

Als Versuchspflanzen wählten Nobbe und Hiltner in erster Linie landwirtschaftlich wichtige Papilionaceen, aber daneben auch Vertreter der Mimosaceen und der Cäsalpiniaceen. Die Anordnung ihrer Versuche war im allgemeinen die, daß sie einmal die zu prüfende Leguminose mit Bakterien ihrer Art infizierten, dann aber auch Bakterien aus Knöllchen näher oder ferner stehender Arten verwendeten und also, um es noch einmal zu wiederholen, wechselseitige Infektionsversuche ausführten. In einer ihrer letzten Arbeiten[1]) sind sie noch einen Schritt weiter gegangen; sie infizierten Pisum und Phaseolus mit Bakterien, von ihnen „Kreuzungsbakterien“ genannt, welche aus durch Erbsenbakterien erzeugten Bohnenknöllchen stammten.

Als Vegetationsgefäße benutzten sie solche aus Glas von 6,5 l Fassungsraum. Zur Füllung derselben verwendeten sie in den ersten Jahren sterilisierten tertiären Quarzsand mit einem Zusatze von 5 Proz. Torfpulver, später reinen Quarzsand, bei den letzten Versuchen ein Gemisch von $^3/_4$ Volumen Glassand und $^1/_4$ Volumen Gartenerde. Die mineralischen Nährstoffe wurden immer in ausreichender Menge gegeben, eine Stickstoffgabe war im allgemeinen natürlich ausgeschlossen. Zwecks Sterilisierung wurden die Gefäße mit destilliertem Wasser, dann mit absolutem Alkohol ausgespült, der Sand gewöhnlich geglüht, die Nährstofflösung 3mal längere Zeit auf 100° C erhitzt. Nachdem die Töpfe mit dem Boden und der Nährlösung beschickt waren, wurden sie mit sterilisierter Watte bedeckt und 3mal im Dampfapparate sterilisiert. Das Sterilisieren der Samen erfolgte mittels $^1/_{10}$-proz. Sublimat, das Einquellen in sterilem Wasser, das Ankeimen in sterilem Sande. Zum Begießen war eine besondere Einrichtung getroffen. In der Führung eines am oberen Rande des Gefäßes befindlichen Zinkringes war eine dem Wassernachflusse dienende Glasröhre befestigt, welche 9—10 cm tief in den Boden hinabreichte. Das zum Begießen der Pflanzen erforderliche Wasser wurde vor dem Gebrauche in einem Kessel nochmals aufgekocht und aus diesem in ca. 20 l fassende, geschlossene Zinkcylinder übergefüllt. Durch ein Abflußrohr leitete man das Wasser in tarierte Glastrichter, welche durch einen Gummischlauch und die oben bezeichnete Glasröhre mit den Versuchsgefäßen in Verbindung gesetzt werden konnten.

(Fortsetzung folgt.)

Ueber die Anspannungsfähigkeit der Knöllchenbakterien ungleichen Ursprunges an verschiedene Leguminosen-Gattungen. (Ebenda 1896.)

Ueber die Dauer der Anpassungsfähigkeit der Knöllchenbakterien an bestimmte Leguminosen-Gattungen. (Ebenda 1898.)

Ueber den Einfluß verschiedener Impfmengen auf die Knöllchenbildung und den Ertrag von Leguminosen. (Ebenda 1901.)

1) Künstliche Ueberführung der Knöllchenbakterien von Erbse in solche von Bohne (Phaseolus). (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. VI. 1900.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage der chemischen Reizmittel.

Von **N. Ōno.**

In einer früheren Arbeit[1]) veröffentlichte ich, anknüpfend an die Untersuchungen von Richards, eine Reihe Versuchsresultate, welche unter anderem zeigte, daß beim Zusatz von Salzen verschiedener Schwermetalle in genügend verdünntem Zustande zu der Nährlösung eine nicht unerhebliche Zunahme des Ernteertrages der Schimmelpilze Aspergillus niger und Penicillium glaucum zu erzielen und in diesem Verhalten auch das Kupfersulfat nicht ausgeschlossen war. Hattori[2]) teilte in seiner dem Studium über die Einwirkung des Kupfersulfats auf einige Pflanzen gewidmeten Arbeit mit, daß er bei Schimmelpilzen zu wesentlich gleichen Resultaten gelangte.

In Bd. VII. No. 12 dieser Zeitschrift erschien nun ein Artikel von Herrn Andreas Richter, betitelt „Zur Frage der chemischen Reizmittel", in welchem der Autor sich mit dem Einfluß von Zink- und Kupfersalzen bei der Ernährung von Aspergillus niger beschäftigte. Er zieht aber aus seinen Ergebnissen einen abweichenden Schluß, was Kupfer anbetrifft und bekämpft die von mir und Hattori gewonnenen Resultate. Dieses gab mir Anlaß, das Thema wieder aufzunehmen und von neuem die damals in verhältnismäßig geringer Anzahl angestellten Versuche mit Kupfer zu wiederholen. Die folgenden Darlegungen beziehen sich zum Teil auf meine neuen Versuche, zum Teil aber auf die Behauptungen und Resultate Richter's. Richter's Angriff ist auf meine Versuchsanstellung gerichtet, bei welcher nicht für Erneuerung der Luft in den Kulturgefäßen Sorge getragen worden sei. Diesem Einwand kann man wohl entgehen, wenn man genügend große Kolben benutzt und die Kulturdauer verkürzt. Ich wiederholte, diese Vorsicht im Auge behaltend, meine ehemaligen Versuche und ergänzte sie, soweit die Umstände es erlaubten. Ich gehe zuerst zur Beschreibung der Versuchsanordnung über:

Als Kulturgefäße wurden Erlenmeyer'sche Kolben aus Kaliglas (Fabrik von Walther, Stützerbach in Thüringen) von 410 ccm Gesamtinhalt angewandt. Diese Kolben waren genügend groß, um die vermeintliche Erstickung zu vermeiden, denn nach Eingießen von 50 ccm Nährlösung blieben noch 360 ccm Luftraum übrig.

1) Ōno, Ueber die Wachstumsbeschleunigung einiger Algen und Pilze durch chemische Reize. (Journal of the College of Science. Imp. Univ. Tokyo. Vol. XIII. 1900. p. 141.)

2) Hattori, H., Studien über die Einwirkung des Kupfersulfats auf einige Pflanzen. (Ebenda. Vol. XV. 1901. p. 371.)

Zunächst wurden folgende Lösungen hergestellt:

A. 1000 ccm der Lösung enthielten

Rohrzucker	85 g
NH_4NO_3	16 g
$MgSO_4$	3 g
KCl	3 g
$NH_4H_2PO_4$	3 g
Eisensulfat	Spur!

B. 1000 ccm der Lösung enthielten

Asparagin 10 g anstatt NH_4NO_3 16 g
KH_2PO_4 5 g anstatt KCl und $NH_4H_2PO_4$
sonst wie bei A.

Je 30 ccm der Lösung A oder B wurde in die Kolben gegossen, dazu je 10 ccm verdünnte reine Kupfersulfatlösung[1]) zugesetzt und im Dampfsterilisationsapparat sterilisiert.

In einem Kolben wurde ferner zweimal destilliertes Wasser genügend lange gekocht und nach dem Abkühlen eine Anzahl Aspergillusconidien zugesetzt. Nachdem diese gut durchgeschüttelt waren, um gleichmäßige Verteilung der Conidien zu ermöglichen, wurden je 10 ccm mittels vorher sterilisierter Pipette obenerwähnten Kulturgefäßen zugefügt. So gewann ich eine Serie von Kulturen mit je 50 ccm Kulturflüssigkeit, deren Zuckergehalt ca. 5,1 Proz. betrug. Der Verschluß der Kolben wurde mit Watte gemacht. Die neun Kolben dieser Versuchsreihe befanden sich in einem Rohrbeck'schen Thermostaten bei 24° C resp. 28° C. Nachdem die Pilzrasen eine beträchtliche Entwickelung erreicht hatten, wurden sie abfiltriert, gewaschen, getrocknet und gewogen.

Die Resultate mit Aspergillus niger sind folgende:

Versuchsreihe I. {Nährlösung A. Kulturdauer 5 Tage Temperatur ± 28° C.

1.	Kontrolle:	Ohne Zusatz von $CuSO_4$	Ernte in mg	662
2.	$\frac{1}{32000}$	Mol. $CuSO_4$, enthaltend	" " "	837
3.	$\frac{1}{16000}$	" "	" " "	957
4.	$\frac{1}{8000}$	" "	" " "	924
5.	$\frac{1}{4000}$	" "	" " "	1004
6.	$\frac{1}{2000}$	" "	" " "	940
7.	$\frac{1}{1000}$	" "	" " "	922
8.	$\frac{1}{500}$	" "	" " "	770
9.	$\frac{1}{250}$	" "	" " "	502

Versuchsreihe II. {Nährlösung A. Kulturdauer 7 Tage Temperatur ± 26° C.

1.	Kontrolle:	Ohne Zusatz von $CuSO_4$	Ernte in mg	595
2.	$\frac{1}{32000}$	Mol. $CuSO_4$, enthaltend	" " "	629
3.	$\frac{1}{16000}$	" "	" " "	645
4.	$\frac{1}{8000}$	" "	" " "	692
5.	$\frac{1}{4000}$	" "	" " "	758
6.	$\frac{1}{2000}$	" "	" " "	820
7.	$\frac{1}{1000}$	" "	" " "	844
8.	$\frac{1}{500}$	" "	" " "	989
9.	$\frac{1}{250}$	" "	" " "	716

Versuchsreihe III. {Nährlösung B. Kulturdauer 7 Tage Temperatur ± 28° C.

1) Das benutzte Kupfersulfat stammte aus Merck's Präparaten pro analysi.

1. Kontrolle:	Ohne Zusatz von $CuSO_4$	Ernte in mg	1079
2. $\frac{1}{32000}$	Mol. $CuSO_4$, enthaltend	„ „ „	1133
3. $\frac{1}{16000}$	„ „	„ „ „	1142
4. $\frac{1}{8000}$	„ „	„ „ „	1140
5. $\frac{1}{4000}$	„ „	„ „ „	1158
6. $\frac{1}{2000}$	„ „	„ „ „	1175
7. $\frac{1}{1000}$	„ „	„ „ „	1186
8. $\frac{1}{500}$	„ „	„ „ „	1116
9. $\frac{1}{250}$	„ „	„ „ „	1014

Versuchsreihe IV. { Nährlösung B. Kulturdauer 5 Tage Temperatur $\pm 28^{\circ}$ C.

1. Kontrolle:	Ohne Zusatz von $CuSO_4$	Ernte in mg	852
2. $\frac{1}{32000}$	Mol. $CuSO_4$, enthaltend	„ „ „	983
3. $\frac{1}{16000}$	„ „	„ „ „	985
4. $\frac{1}{8000}$	„ „	„ „ „	1018
5. $\frac{1}{4000}$	„ „	„ „ „	1032
6. $\frac{1}{2000}$	„ „	„ „ „	1041
7. $\frac{1}{1000}$	„ „	„ „ „	1061
8. $\frac{1}{500}$	„ „	„ „ „	1015
9. $\frac{1}{250}$	„ „	„ „ „	1011

An der Hand dieser Resultate kann ich nicht anders schließen als früher, nämlich, daß Kupfersalze in verdünnter Lösung den Ernteertrag erhöhen und sie in dieser Hinsicht sich den Salzen des Zinks und anderer Metalle anschließen.

Es könnte vielleicht der Verdacht auftauchen, daß diese Ernteerhöhung Eisenverbindungen, die in Kupfersalzen als Beimengungen vorkommen, zuzuschreiben sei. Doch trifft ein solcher Einwand in unserem Falle nicht zu, da erstens in unserem Kupfersulfat Eisen sich überhaupt nicht nachweisen ließ, und zweitens, vorausgesetzt, daß eine äußerst geringe Menge von Eisen auch in unserem Kupfersulfate enthalten gewesen wäre, so wäre bei der hohen Verdünnung unserer Kupferlösung der Eisengehalt auf eine verschwindende Spur gesunken [1].

Nun wollen wir uns an die Resultate Richter's wenden:

Es sei hier erlaubt, der Uebersichtlichkeit halber die Resultate, auf welche der Autor seine Ansicht über die Wirkung der Kupfersalze stützt, wiederzugeben (seine Serien F und G) [2]:

Serie F. Nährlösung nach Raulin. Zucker 4,66 Proz. Kein Silicium.

Dauer in Stunden	Liter Wasser auf gr. Mol. $CuSO_4$	Trockengew. in g
120	150 000 000	0,7501
„	50 000 000	0,7773
„	15 000 000	0,7531
„	7 500 000	0,6671
„	1 500 000	0,6215
144	750 000	0,8911
„	500 000	0,6905
„	375 000	0,7141
„	150 000	0,7211
„	75 000	0,7137

1) Richards wies nach, daß bei Gegenwart geringer Quantitäten von Eisensulfat, ungefähr bei 0,033 Proz., eine Normalernte erzielt wird, daß dagegen bei höheren Prozentsätzen eine beträchtliche Erntezunahme ebenso wie bei Zinksalzen sich geltend macht.

2) Seine Serien A—E beziehen sich auf Zink.

144	22 000	0,7041
"	15 000	0,5117
"	7 500	0,5983
"	3 750	0,5501
"	2 250	0,4671
"	1 125	0,3561
"	375	0,0743
"	125	0,0000
"	∞	1,0891

Bei näherer Besichtigung der Tabelle zeigt sich nun, daß, während die normale Ernte 1,0891 g betrug, die Ernte schon beim Zusatz von Kupfersulfat in so hoch verdünntem Zustande wie $\frac{1}{6000000}$ Mol. (150000000 l Wasser auf gr. Mol. $CuSO_4$) auf 0,7501 g herabsank. Diese Abnahme beträgt sonach 31 Proz. der normalen Ernte. Leider hat Richter nur einen einzigen Kontrollversuch ohne Kupfer gemacht. Es kann also möglich sein, daß wegen einer Zufälligkeit ungewöhnlich viel im Kontrollkolben gewachsen ist.

In der That enthält die oben reproduzierte Tabelle sämtliche Resultate, auf welche der Autor seine Ansicht über die deprimierende Wirkung des Kupfers selbst bei hoher Verdünnung begründet. Er sagt wörtlich: „Wir haben also sozusagen in dem Cu und Zn 2 Typen von chemischen Reagentien auf das pflanzliche Objekt: Das Kupfer immer depressierend, das Zn depressierend bloß in starken Konzentrationen, in schwachen Lösungen dagegen wirkt es als energischer Reizerreger, Stimulator“ (l. c. p. 425). Er faßt weiter, auf Grund theoretisch-chemischer Anschauungen, das $ZnSO_4$ als solches deprimierend auf, die Zn-ionen dagegen als stimulierend. $CuSO_4$ sei dagegen nicht nur als solches, sondern auch in Form von Cu-ionen deprimierend, aber in geringerem Grade. Wie aus oben angeführten Erwägungen ersichtlich ist, können diese Sätze Richter's, soweit sie sich nur auf die oben besprochenen Resultate stützen, zu meinem Bedauern nicht den Anspruch auf strenge Beweiskraft machen.

Die weiteren Beobachtungen Richter's, welche sich auf Kupfer beziehen, sind folgende, welche sich auf die gleichzeitige Anwesenheit von Zink beziehen (seine Serie G):

Nährlösung wie früher.
Zink in Verdünnung von einer gr. Mol. auf 200000 l.

Dauer in Stunden	l Wasser a. gr. Mol. CuS_4	Trockengewicht
120	∞	1,6135 g
"	75 000	2,2701 "
"	22 500	1,8951 "
"	7 500	1,8843 "
"	3 750	1,7781 "
"	2 250	1,4241 "
"	425	1,5629 "
"	375	0,3941 "
"	125	0,0000 "

Wenn man diese Zahlen betrachtet, so sieht man, daß die Ernte bei der ca. $\frac{1}{3000000}$ Mol. (75000 l Wasser a. gr. Mol.) $CuSO_4$ enthaltenden Kultur eine erhebliche Steigerung (ca. 40 Proz.) erfuhr. Da alle Kulturen gleicherweise zinkhaltig sind, so scheint mir jene höhere Ernte sehr wahrscheinlich auf der günstigen

Wirkung des Kupfersalzes zu beruhen. Diese Interpretation aber will der Autor nicht zulassen; er sucht dagegen aus diesen Resultaten die Thatsache zu erklären, daß nach Raulin $CuSO_4$ schon bei Verdünnung von etwa 1:480 ganz indifferent sein wird, indem er sagt: „In der That, schon bei Gehalt der Lösung an Zink in der Verdünnung von 200000 l ist die Wirkung eines Grammmolekels Cu auf 1125 l nicht mehr zu merken, wird sozusagen von der stimulierenden Wirkung des Zn vollständig paralysiert".

Ueber die Frage der chemischen Reizmittel liegen zwei wesentlich verschiedene Ansichten vor. Nach der einen ist die erregende Wirkung als der Ausdruck eines allgemeinen Gesetzes der Gegenreaktion des Organismus auf den schädlichen Eingriff aufzufassen, indem das Protoplasma den schädigenden Einflüssen durch zeitliche oder dauernde Erhöhung der Lebensfunktionen entgegenarbeitet. Nach dieser Ansicht ist die Erscheinung mit der Erhöhung der Respiration durch Verletzungen (Stich und Richards) oder durch parasitische Pilze (Böhm) zu vergleichen [1].

Die zweite Ansicht, welche die Gegenreaktion seitens des Organismus weniger berücksichtigt und das Hauptgewicht auf die wirkenden Mittel zu legen scheint, wird auch von Richter vertreten. Er glaubte, im Kupfer eine Substanz gefunden zu haben, welche nie erregend einwirkt. Er formuliert seine Ansicht in einen allgemeinen Satz: „In jedem Falle sind die Agentien vollständig verschieden; während das eine giftig wirkt, stimuliert das andere. Die Veränderung in der Wirkung auf den Organismus hängt nicht von dem Prozentgehalt des Salzes in der Lösung, sondern von dem Vorhandensein verschiedener Stoffe in derselben ab." Er leugnet die erste Ansicht, indem er sagt: „Und so erscheint die allgemeine Ansicht über die Wirkung der Reizerreger für unseren eng begrenzten Fall vollständig phantastisch und fußt bloß auf ungenügender Bekanntschaft mit der Theorie der Lösungen" (l. c. p. 426). Doch dürfen wir uns nicht von der Theorie der Lösungen zwingen lassen, daß Kupfersulfat als solches oder Cu-ionen immer giftig wirken müssen. Wie diese im konkreten Falle wirken, darf man nur aus experimentellen Daten schließen. Unsere oben erwähnten Versuche zeigen in der That, daß Kupfer unter Umständen stimulierend wirken kann und die zu diesem Schluß im Widerspruch stehenden Versuche Richter's scheinen mir, wie oben erwähnt, nicht beweiskräftig zu sein. Es ist ferner zu bemerken, daß Richter, um den Dissociationsgrad zu zeigen, die Tabelle der Aequivalentleitfähigkeit nach Kohlrausch für $CuSO_4$ citiert. Doch ist es kaum zu bezweifeln, daß in einer so komplizierten Lösung wie einer Pilznährlösung organische Cu-Verbindungen entstehen

1) Vergl. hierüber z. B. Hueppe, Naturwissenschaftliche Einführung in die Bakteriologie. Wiesbaden 1896. p. 55. Der Autor führt den folgenden Satz unter dem Namen „Biologisches Grundgesetz" ein, daß „jeder Körper, der in bestimmter Konzentration Protoplasma tötet oder vernichtet, in geringeren Mengen die Entwickelungsfähigkeit aufhebt, aber in noch geringen Mengen, jenseits eines Indifferenzpunktes, umgekehrt als Reiz wirkt und die Lebenseigenschaften erhöht".

(z. B. weinsaures Kupfer in Raulin's Flüssigkeit und Asparaginkupfer in meiner Lösung B), so daß die Dissociationsverhältnisse für $CuSO_4$ hier nicht anwendbar sind.

Zum Schluß seien hier noch einige einschlägige Beobachtungen über die giftigen Einwirkungen des Kupfers auf Pflanzen kurz besprochen. Obwohl die Giftigkeit der Kupfersalze, insbesondere des Kupfersulfates längst bekannt und die diesbezügliche Litteratur in der neueren Zeit sehr angeschwollen ist, so liegen uns andererseits über die erregende Wirkung desselben Salzes in stark verdünnten Lösungen sehr wenige Arbeiten vor. In Bezug auf die Erntezunahme beim Zusatz von Kupfersulfat erinnere ich an die Günther'sche Arbeit über Pilze[1] [2]. In gärungsphysiologischen Gebieten findet man oft Angaben über die stimulierende Wirkung verschiedener Gifte, Cu-Salze eingeschlossen, auf die Gärungserreger und günstige Wirkungen wurden vielfach bei der Alkoholgärung durch Hefe konstatiert. Aehnliches fand Richet[3] auch bei Milchsäuregärung auf Zusatz von $CuSO_4$ (begünstigende Dosis ist hier 0,5 mg pro Liter); steigt die angewandte Menge, so wird ein schädlicher Einfluß bemerkbar; wird aber der Zusatz noch kleiner, so wird derselbe ganz indifferent. Im Jahre 1899 studierte Jacobi[4] die Einwirkung verschiedener Substanzen auf die Atmung der Wassergewächse. Während hier bei den meisten von ihm in Untersuchung genommenen Substanzen eine mehr oder weniger merkwürdige Erhöhung der genannten Funktion beobachtet wurde, war es mit Kupfersulfat nicht so; es rief eine Herabsetzuug derselben hervor. Mir scheint aber, daß hier die Herabsetzung dadurch bedingt war, daß er $CuSO_4$ in isotonischer Konzentration (etwa 0,3 Proz.) mit der optimalen Dosis (etwa 0,5 Proz.) von verhältnismäßig indifferenten Stoffe wie KNO_3 angewendet hat. Es ist also wohl möglich, daß das Kupfersulfat bei weiterer Verdünnung auch beschleunigend wirken kann. Die Versuche über den Einfluß verschiedener Metallsalze sind im Gange und hoffe ich dieselben bei anderer Gelegenheit mitteilen zu können.

---

1) E. Günther, Beitrag zur mineralischen Nahrung der Pilze. [Inaugural-Dissertation.] Erlangen 1897.

2) Raulin's Standpunkt zu dieser Frage ist sozusagen ein neutraler, da, obschon er Kupfersalze mit Platin und Silber den schädlichen Stoffen zurechnet, er doch bei seinen Versuchen folgende Resultate erhielt:

		Gesamte Ernte
$CuSO_4$	$\frac{1}{160}$	1,6 g
"	$\frac{1}{240}$	2,5 "
"	$\frac{1}{480}$	3,2 "
"	$\frac{1}{960}$	3,3 "
"	0	3,2 "

Daraus schließt er, daß Cu-Salze bei Verdünnung von etwa $\frac{1}{480}$ ihre Giftigkeit ganz einbüßen und indifferent werden. Wie Richter diese Resultate erklärt, ist schon oben besprochen worden.

3) Richet, Ch., De l'action de quelques sels métalliques sur la fermentation lactique. (Compt. rend. Paris. T. CXIV. 1892. p. 1494.)

4) Jacobi, Ueber den Einfluß verschiedener Substanzen auf die Atmung und Assimilation submerser Pflanzen. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899.)

In gewisser Verknüpfung mit dem vorliegenden Thema steht die Frage von der wohlbekannten Reizwirkung der Bordeauxmischung auf die Vitispflanze. Viele Forscher haben dem Kupfer die Hauptrolle zugeschrieben, andere dagegen anderen Bestandteilen der Brühe, wie z. B. Aderhold dem Eisen in Kupfersulfat und in Kalk. Die Entscheidung dieser und anderer Fragen werden wohl künftige Studien bringen.

Tokyo, März 1902.

Zum Fehlschlagen der Sporangien bei Mucor Rouxii.

Von T. Chrząszcz.

In No. 7 dieses Centralbl.[1]) wollte Prof. Wehmer durch einen Artikel seine Angaben über das Fehlschlagen der Sporangien bei Mucor Rouxii bestätigen und ich fühle mich infolgedessen gezwungen, nochmals diese Frage zu berühren.

Es ist eine bekannte Thatsache, daß manche von den Mucorineen auf ungünstigen, festen Nährböden, wie z. B. auf Agar, Gelatinesubstraten, nur schlecht, also spärlich, fruktifizieren, hingegen aber in diesem Falle Gemmen produzieren.

Ein gutes Beispiel hierfür wies Mucor Rouxii auf. Derselbe zeigt eine reichliche Gemmenvegetation auf den oben erwähnten Substraten, besonders bei älteren Kulturen.

Als ich bei der Bearbeitung „der chinesischen Hefe" die Angaben Wehmer's bei Mucor Rouxii nachgeprüft hatte[2]), kam ich zu der Ueberzeugung, daß die Angabe des Fehlschlagens von Sporangien auf Irrtum beruhe, und habe dies auch damals schon ausgesprochen[3]).

In No. 25 dieses Centralbl.[4]) habe ich die Abbildungen eines solchen Wehmer'schen Fehlschlagens von Sporangien angegeben und wurden dieselben in No. 7 dieses Centralbl. von Prof. Wehmer kritisiert und als Gemmenvegetation bezeichnet.

Aber ja! — Ich behauptete ja doch fortwährend, daß wir es in diesem Falle mit Gemmen zu thun haben, was auch endlich von Prof. Wehmer bestätigt wurde.

Es ist also Thatsache, daß auf Agar und anderen ungünstigen fetten Nährböden bei Mucor Rouxii Gemmen vorkommen.

Und jetzt, wie verhält sich meine Abbildung zu der Wehmerschen, welche von mir als etwas Gleiches, von Wehmer als etwas Verschiedenes bezeichnet wurde?

In meiner Skizze sind die Konturen scharf gezeichnet, in der kolorierten Abbildung Wehmer's fehlen sie gänzlich.

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 210.
2) Ebenda. Bd. VII. 1901. p. 326.
3) Ebenda. Bd. VII. 1901. p. 336.
4) Ebenda. Bd. VII. 1901. p. 913.

Ich zeichnete die Konturen mit Absicht scharf, und zwar deshalb, weil bei dem fortschreitenden Alter der Kultur die Konturen sich immer schärfer zeigen. Bei jungen Kulturen, wie sie von Wehmer abgebildet sind (hier fehlen sie vollständig?!), sind diese Abgrenzungen wenig deutlich, bei alten Kulturen treten sie scharf hervor. Das ist der Unterschied, auf welchen Prof. Wehmer seine Angaben stützt.

Wehmer bestätigt aber, daß meine Abbildungen Gemmenvegetation behandeln und daraus geht folgende Frage hervor:

Hat Prof. Wehmer auf den oben erwähnten festen Nährböden wirklich keine Gemmen gesehen? Und wenn er diese gesehen, was ich doch annehmen muß schon deshalb, weil er diese so leicht auf meiner Abbildung erkannte — warum erwähnte er dann von diesen gar nichts, sondern spricht von seinem Fehlschlagen der Sporangien, welches weder Calmette[1]) noch ich bemerkt haben?

Wien, den 14. März 1902.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Royal Society, London.

February 20, 1902.

On pure cultures of a Uredine, Puccinia dispersa (Eriks).

By **H. Marshall Ward,** F.R.S.

With 2 figures.

During the course of a long series of experiments, designed to seek further information regarding the relations between the host and the parasite, in the case of certain species of Bromus and the Rust-fungus, Puccinia dispersa (Eriks), it fell out that a simple method of obtaining pure cultures of both host and parasite was attainable.

Tube-cultures.

In order to obtain more dicisive answers to such questions as — Are any of the results obtained on plants in the open, or merely covered with bell-jars and so forth, due to spores accidentally introduced, or to mycelium, &c., already in the plant ?—a number of infections were made on seedlings germinated and grown antiseptically in tubes as follows: —

A a preliminary trial, to test whether grass seedlings would live long enough in tubes and show the results of infection, I placed seedlings, all similar, and bearing three to four leaves, in test-tubes, the roots, carefully washed free of soil, resting on wet

1) La levure chinois. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VI. 1892.)

cotton wool, and the orifice of the tube plugged. The results of two series apparently showed that spores from B. mollis infect B. mollis and B. sterilis[1]), B. secalinus and B. arvensis, but not B. inermis, while spores grown on B. sterilis only infected B. secalinus and B. arvensis (see Table I).

Table I. — Three-leafed Seedlings in closed Test-tubes, on wet Cotton-wool, kept a N. Window and infected forthwith with Spores from B. mollis and B. sterilis.

Exp. No.	Date	Host	Origin of spores	Result[2])	Incubation period	Period of experiment	Remarks
697	May 25	B. inermis	B. sterilis	—		21 days	
697	„ 25	„ sterilis	„ „	—		21 „	Leaf yellow and faded by June 3.
697	„ 25	„ mollis	„ „	—		21 „	
697	„ 25	„ secalin.	„ „	+	14 days	21 „	Pustules very small.
697	„ 25	„ arvensis	„ „	+	14 „	21 „	„ „ „
705	„ 30	„ mollis	„ mollis	+	9 „	21 „	
705	„ 30	„ arvensis	„ „	—		21 „	Two leaves still green at end of experiment.
705	„ 30	„ „	„ „	+	9 „	21 „	
705	„ 30	„ inermis	„ „	—		21 „	Two green leaves at end.
705	„ 30	„ sterilis	„ „	+	9 „	21 „	
705	„ 30	„ secalin.	„ „	+	9 „	21 „	

It is a striking fact that under the conditions afforded by these closed tubes, with their stagnant moist atmosphere, spores from B. sterilis apparently succeeded in infecting B. secalinus and B. arvensis. The pustules were small, and it is significant that it took 14 days' incubation to etablish the mycelium, against 9 days in the case of spores from B. mollis.

There are, however, other slight departures from the usual course of events — e. g., spores from B. mollis failed on B. arvensis and succeeded on B. sterilis — which may point to the probability that these uprooted seedlings in tubes are not in their normal conditions. The facts seem worth recording in this connection.

I varied these tube-cultures by placing them, after infection, under cuvettes filled with copper sulphate (blue light) or bichromate of potassium (orange light). The results were somewhat contradictory as regards the blue, but it did appear that the spores coming from B. mollis can infect B. sterilis as well as B. secalinus, as the following Table II shows.

It is important here to bear in mind the origin of the seedlings themselves, however, as a serious source of error was

---

1) An exceptional circumstance, as numerous experiments have shown, and itself sufficient to raise the criticism which follows.

2) In all cases the sign + signifies that spore-bearing pustules were developed; the sign — that no signs of infection were visible.

discovered in these uprooted seedlings, previously exposed to possible infection in the open.

Tse same criticisms, in fact, apply to these transplanted garden seedlings in tubes as I have given elsewhere regarding such experiments in pots, viz., it was always possible that the seedling was already infected, or had wind-blown spores on it when removed from the beds. At the same time the long incubation period, 14 days in some cases, fails to support this.

Table II. — Test-tubes with Seedlings (as in Experiment 697 infected on Third Leaf and then put under Cuvettes of $CuSO_4$ and K bichromate respectively, and kept in the garden fully exposed to sun during mid-day.

Exp. No.	Date	Host	Origin of spores	Result	Incubation	Colour of light	Remarks
698	May 25	B. sterilis	B. mollis	+	14 days	Orange-red	
698	„ 25	„ „	„ „	+	14 „	„	
698	„ 25	„ „	„ „	—		Blue	No trace of pustules, though two leaves still green.
698	„ 25	„ „	„ „	—		„	Dto.
709	June 11	„ „	„ „	+	10 „	Orange-red	
709	„ 11	„ „	„ „	+	11 „	„	
709	„ 11	„ „	„ „	+	11 „	„	
709	„ 11	„ „	„ „	—	11 „	Blue	On the 22nd, however, I note that the cuvette leaked above and has let in white light.
709	„ 11	„ „	„ „	—	11 „	„	
709	„ 11	„ secalin.	„ „	+	11 „	„	
709	„ 11	„ „	„ „	+	11 „	„	
709	„ 11	„ „	„ „	—	11 „	„	
709	„ 11	„ „	„ „	+	10 „	Orange	
709	„ 11	„ „	„ „	+	10 „	„	

To meet this objection I devised operations as follows: —

Clean picked seeds were placed singly, by means of forceps, on filter paper at the bottom of Petri-dishes properly sterilised by heat. When these had germinated, and observation showed that the whole series was free of moulds or other signs of contamination, the seedlings were removed by means of sterile forceps, and transplanted singly into sterilised tubes of various kinds as described below, and the further growth allowed to proceed in the light under conditions varied as will be seen.

I had already shown that seedlings will continue to grow in such tubes, but, as we have seen, in the cases previously described I had no guarantee that the seedlings introduced into the culture-tubes did not already carry on their leaves wind-borne or otherwise transmitted spores.

In the case of these seedlings germinated from clean "seed" in sterile dishes and tubes, it is obvious that the only chance of infection depends on spores attached to the "seed" or on mycelium in the seed.

Experiments with seed gathered even from badly rusted plants and germinated as above, have never given rusted seedlings, although other experiments have shown me that the germ-tubes of attached spores can infect seedlings when the plumule is only 3—5 mm high. Nor have I ever been able to discover any trace of mycelium in the seeds.

But if the "seed" of the Bromus is sterilised before germination — as can be done by steeping in various antiseptics, or by heating to 60—70° C — it is found that pure cultures of the Brome may be obtained in the tubes, and it is then only necessary to infect such a clean seedling with the spores of the parasite to obtain a pure culture of the latter.

Preliminary experiments soon showed that the Brome seedlings thus raised from seeds treated antiseptically, and protected from the first by glass, may be grown for weeks and even for a couple of months in such tubes under proper precautions, and I set myself the task of ascertaining how such cultures would behave in infection experiments.

In the following experiment — No. 711 — eight upright tubes of the kind known to chemists as "drying towers", were prepared as in the diagram (fig. 1), so that by means of an aspirator attached to the tubing at *G*, a continuous current of damp air could

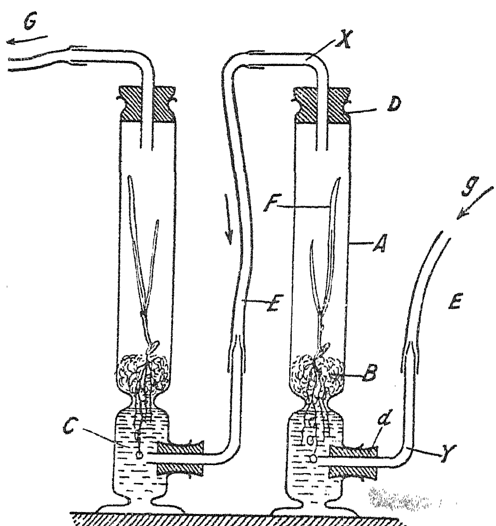


Diagram showing arrangement of tubes for pure cultures of grass seedlings — see text — here shown connected up for aëration. Reduced.

A = glass jar. *B* = cotton-wool saturated with liquid. *C* = liquid reservoir containing nutritive culture solution, through which air bubbles pass *D* and *d* = caoutchouc stoppers pierced by glass tubing. *EE* = caoutchouc tubing. *F* = seedling with its roots in *B* and its leaves in air. *G* and *g* = arrows showing direction of air current. *x* and *y* = glass tubes.

be slowly drawn through the whole series, aërating the roots of the seedlings *F*, which burrowed into the cotton-wool *B*, day and night. The tubes were charged each with one seedling, grown from seeds heated to 65° C, and 48 hours after germination had begun, and the latter allowed to grow in the light on a table outside the laboratory. The tubes were charged on June 14, and on June 19, when the first green leaf was well developed, the latter was infected at a definite spot with spores — proved to be capable of vigorously germinating by cultures in hanging drops — and the whole series linked up and aërated. The growth of these seedlings in the moist air-current was very satisfactory, the plants having a deep rich green colour, though the leaves were short, and the results, as shown in the following Table III, were very instructive.

Table III. — Experiments in Aërated and in Closed Tubes. Selected and Sterilised Seeds and Clean Seedlings. Infected when one week old. Roots in Knop's Solution.

Expt. No.	Date	Host	Origin of spores	Treutment	Results	Period of incubation	Period of experiment	Remarks
711	June 19	B. sterilis	B. mollis	Aërated continuously	—		21 days	
711	„ 19	„ „	„ „	„ „	—		21 „	
711	„ 19	„ mollis	„ „	„ „	+	12 days	21 „	
711	„ 19	„ „	„ „	„ „	+	16 „	21 „	
712	„ 19	„ sterilis	„ „	„ „	—		21 „	
712	„ 19	„ „	„ „	„ „	—		21 „	
712	„ 19	„ mollis	„ „	„ „	?		21 „	Flecks developed, but no spores formed
712	„ 19	„ „	„ „	„ „	?		21 „	Flecks developed, but no spores formed
713	„ 19	„ „	„ „	Closed tubes	+	8 „	21 „	
713	„ 19	„ „	„ „	„ „	+	12 „	21 „	
713	„ 19	„ sterilis	„ „	„ „	—		21 „	
713	„ 19	„ „	„ „	„ „	—		21 „	
713	„ 19	„ velutinus	„ „	„ „	+	10 „	21 „	Very fine growth of sporiferous pustules
713	„ 19	„ maximus	„ „	„ „	—		21 „	
713	„ 19	„ madritensis	„ „	„ „	—		21 „	
713	„ 19	„ commutatus	„ „	„ „	+	10 „	21 „	
713	„ 19	„ arvensis	„ „	„ „	—		21 „	
713	„ 19	„ secalinus	„ „	„ „	+	8 „	21 „	Very fine pustules
713	„ 19	„ interruptus	„ „	„ „	+	10 „	21 „	
713	„ 19	„ racemosus	„ „	„ „	+	11 „	21 „	

In this series the liquid employed was the normal Knop's mineral solution (+), so well known as used in water-cultures. The tubes were charged with this before sterilisation, enough being put in to wet the cotton-wool plug (*B*), and fill the reservoir (*C*), the side-tube y being fused at its pointed end during sterilising.

Since each tube is linked to its neighbour with clean flexible tubing, and the air bubbles through the liquid in the reservoir (*C*), and has to pass the cotton-wool plug (*B*) before reaching the

leaves (F) in the air above, there can be no question of infection from outside, and the results also show that infection only occurs exactly where I place the spores on the leaf in each case.

The spores employed were carefully tested as regards their germinating power, and, as the table shows, the results in the closed tubes fully bear out previous experience. In the aspirated tubes, however, the second pair of seedlings of B. mollis (No. 712) gave negative results, inasmuch as only flecks, and not pustules bearing spores, were developed. In the closed tubes, however — see below — the positive results, especially on B. velutinus and B. secalinus, were excellent, and subsequent examination showed that the spores germinated well, and were capable of infecting other seedlings.

In order to test further the behaviour in mineral solutions, I prepared, as Table III shows, several series in closed tubes, Nos. 713 which served as a parallel series to Nos. 711 and 712, but without aëration.

In No. 713 the sterile seedlings were raised antiseptically as before, but the roots merely penetrated cotton-wool saturated with Knop's solution, and held by the constriction over the bulb filled with the same, no air being drawn through.

The growth was excellent, and the results very conclusive, as Table III shows.

The seedlings were allowed two days at 22—20° C in the laboratory and then put out side by side with 711 and 712 in full sun during the middle of the day, and after two days' further growth were infected.

By the 10th day the thin leaf was well developed, and the first pustule was seen on B. mollis and B. secalinus on the eighth day after infection. The Table III shows the course of events in detail.

The growth of pustules was excellent on B. velutinus and B. secalinus especially.

This experiment is interesting, not only as showing that plants can be grown and infected successfully in these closed water-cultures, but especially as showing the contrast between the aërated and non-aërated tubes, for, since the infected seedlings were selected in each case from the same Petri-dish cultures, we must assume that the difference in rate of development was due to the difference of ventilation, and perhaps conclude that this interferes with the success of the parasite, as measured by the somewhat longer incubation period. It is remarkable how dwarfed the continuously aërated plants are, compared with those in closed tubes, owing to the elongation of the leaves of the latter.

It is clear, therefore, that pure cultures of Uredo-spores can be obtained by this method, and it is equally clear that we can also obtain pure cultures of the host-plants, and since we can do this, there is no reason why the infection of Uredineae should not be conducted as rigorously and exactly as that of bacteria. As

matter of fact, I have succeeded in proving that it can [1]), though of course the length of time occupied in a large series of cultures and infections will prove troublesome, and it remains to be seen whether we can get such plants to flower.

The following Table IV gives the results of an additional series where B. secalinus was the host, and spores from the same used as infecting material. In this case the tubes used were closed from the first (see fig. 2). These results appear to me to dispose effectually of the question as to whether or not pure cultures of Uredineae can be obtained.

(See Table IV page 168.)

A number of isolated tube-cultures were made with spores from B. sterilis, B. mollis and B. secalinus, and arranged simi larly, and confirmatory results obtained. Moreover, I was able in several cases to transfer successfully spores from these pure tube cultures to other tubes of pure cultures of seedlings, and to prove that the spores raised under strictly antiseptic conditions are capable of germination and infection.

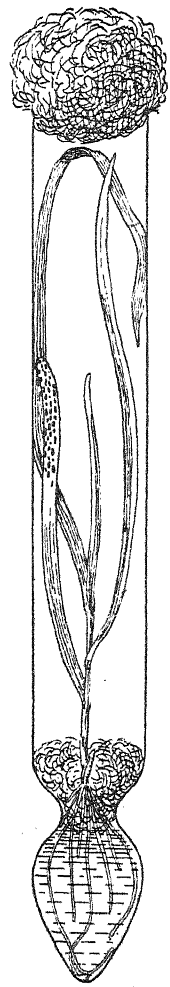


Fig. 2. Pure culture of Puccinia dispersa on Bromus velutinus. The "seed" of the grass, antiseptically sterilised as regards fungus spores by heating to 65.° C, was germinated in the sterile tube, and infected on the first leaf with spores developed on Bromus mollis. The infection was successful, and pustules of spores have appeared only on the area inoculated. About natural size.

At the same time, it was noteworthy that in several cases the antiseptically raised spores were not always successful in infecting the seedlings, and it remains for further investigation to determine whether this was due to the conditions of culture of the fungus or the host or both.

1) I. e., of course so far as fungi are concerned: the antiseptic treatment adopted does not always exclude harmless bacteria.

Table IV. — Closed tubes of antiseptic seedlings (seeds sterilised at 65° C) in nutritive solutions. Tubes merely plugged, and seedlings on wet Plug with solution below. Kept in moderate sunshine.

No.	Date	Host	Origin of spores	Nutritive solution	Aërated or not	Results July 29	Results July 30	Results July 31	Remarks
772 a	July 19	B. secalinus	B. secalinus	Pfeffer normal	not	+	+	+	
„ b	„	„	„	„	„	0	+	+	
„ c	„	„	„	„	„	+	+	+	
„ c'	„	„	„	„	„	0	0	+	
„ d	„	„	„	„	„	+	+	+	
„ d'	„	„	„	„	„	+	+	+	
„ e	„	„	„	Pfeffer, without Fe	„	+	+	+	
„ e'	„	„	„	„	„	+	+	+	
„ f	„	„	„	Detmer, without K	„	+	+	+	
„ f'	„	„	„	„	„	0	0	0	
„ g	„	„	„	Detmer, without P	„	+	+	+	
„ g'	„	„	„	„	„	0	+	+	

(Schluß folgt.)

Referate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Schönfeld, F., Die Stellhefe des Berliner Weißbieres. (Wochenschr. f. Brauerei. XIX. No. 11. p. 146—148. No. 12. p. 173—174. No. 13. p. 197—198. No. 15. p. 217—218. No. 16. p. 229—231.)

Während sonst in der Brauerei peinlichst darauf gesehen wird, daß als Stellhefe eine reine, bakterienfreie Hefe zur Verwendung gelangt, erhält die jetzt gebräuchliche Stellhefe des Berliner Weißbieres ihren Wert gerade durch einen hohen Gehalt an Bakterien und zwar Milchsäurebakterien. Das Verhältnis, in welchem sich Hefen und Bakterien in diesen Stellhefen zusammenfinden, ist nicht ganz konstant, es schwankt zwischen 4:1 und 7:1.

Für die Hefen selbst ist das außerordentlich hohe Vergärungsvermögen charakteristisch, nach beendeter Hauptgärung beträgt der scheinbare Vergärungsgrad 70—75 Proz., gegenüber 35—50 Proz. bei anderen obergärigen Bierhefen. Als Ursache dieser hohen Vergärung ist vielleicht in erster Linie die Verwendung ungekochter Würzen anzunehmen, in denen noch wirksame Enzyme, sowohl kohlehydratspaltende wie proteolytische, thätig sind, die einmal der Hefe gärfähigen Zucker, das andere Mal leicht assimilierbare Stickstoffnahrung darbieten. Die Diastasewirkung wird anfänglich noch durch die beginnende Säuerung unterstützt. Die vollständige Inversion der Stärke in gärfähigen Zucker, wie sie bei gleichzeitiger Wirkung von Hefe und Diastase

auf verkleisterte Stärke zu beobachten ist, tritt nicht ein, da die fortschreitende Säuerung der Würze, die während der Bottichgärung durchschnittlich auf 0,15 Proz. Milchsäure steigt, bei warmer Gärführung aber auch 0,18 und mehr Proz. erreichen kann, die Diastasewirkung vernichtet.

Die Milchsäurebakterien stellen teils gerade, teils geknickte Langstäbchen dar, welche in Größe, Form und Aussehen mit den Milchsäurestäbchen der sauren Milch und der sauren Brennereimaische identisch sind. Vielleicht sind sie mit diesen gleichen Ursprungs und haben ihre etwas abweichenden Eigenschaften erst infolge der veränderten Verhältnisse, unter denen sie sich durch eine lange Reihe von Generationen fortgepflanzt haben, erworben. Die Hauptunterschiede zwischen Brennereimaischen- und Weißbiermilchsäurebakterien liegen in den Temperaturoptima für Säurebildung und Wachstum. Während für ersteres 50° C eine sowohl für Wachstum wie Säurebildung sehr günstige Temperatur ist, so daß es bei dieser Temperatur alle anderen in der Maische vorhandenen Bakterien überhaupt nicht zur Entwickelung kommen läßt, so ist das Brauereibakterium bei dieser Temperatur weder vermehrungsfähig noch imstande, Säure zu bilden, sein Temperaturoptimum liegt zwischen 18 und 30° C.

Wie das Bakterium in die Stellhefe gelangt ist, kann natürlich nicht mehr mit Sicherheit festgestellt werden; Verf. nimmt an, daß dies vor ca. 50 Jahren erfolgt ist, als die Anwendung des Thermometers beim Maischprozeß in vielen Weißbierbrauereien noch unbekannt war, daß damals die eigentlich erforderliche Abmaischtemperatur von 76—77° C häufiger nicht erreicht wurde, bei der sämtliche das Malz infizierenden Bakterien hätten abgetötet werden müssen, so daß das Milchsäurebakterium, das sich an ein Zusammenleben auch mit kräftig sprossender Hefe gewöhnen konnte, zum ständigen Begleiter der Hefe wurde.

Während der Gärung selbst verschiebt sich das Verhältnis zwischen Hefe und Milchsäurebakterien, und zwar begünstigt höhere Gärungstemperatur die Vermehrung der Bakterien; bei kälterer Gärführung ist die Vermehrung derselben viel schwächer, wie aus folgenden beiden Tabellen hervorgeht:

(Siehe Tabelle S. 170.)

Nach Verlauf von ca. 40 Stunden hat sich also in beiden Fällen annähernd wieder das ursprüngliche Verhältnis zwischen Hefe und Bakterien hergestellt. Auffallend ist die außerordentlich starke Hefenvermehrung, die ca. das 8-fache der Aussaat beträgt, gegenüber dem $4^1/_2$-fachen bei normalen untergärigen Hefen. Als ganz korrekter Ausdruck für die Stärke der Bakterienfortpflanzung können die mitgeteilten Zahlen nicht gelten, da die Stäbchen ohne Rücksicht auf Form und Größe gezählt wurden, die längeren Stäbchen sich aber noch aufteilen und sich der ursprünglichen Grundform, der geraden Stabform von einer gewissen Durchschnittslänge nähern.

Was die Säurebildung anlangt, so ist diese am 2. und 3. Tage der Gärung am stärksten, nach erfolgtem Hefeauftrieb geht sie

I. Wärmere Gärungsführung.

Zeit der Beobachtung vom Zusatz der Hefengabe an	Anzahl der Hefenzellen in $1/_{2000}$ ccm	Anzahl der Milchsäurebakterien in $1/_{2000}$ ccm	Temperatur der Würze °C	Verhältnis von Hefenzelle zu Bakterien	
—	5	1,3	17,5	4 :1	
nach 18 Std.	28	4	19	7 :1	
„ 40 „	38	11	22	3,5:1	
„ 64 „	6	3,6	23	1,7:1	Die Hefe ist zum größten Teil aufgetrieben.

II. Kältere Gärungsführung.

—	5	0,8	15	6 :1	
nach 18 Std.	24	2,8	15,5	8,6:1	
„ 25 „	38	3	16	12,7:1	
„ 43 „	40	5,3	18	7,5:1	
„ 65 „	—	0,4	18	—	Hefe ist aufgetrieben.

nur noch ganz unerheblich weiter. Nach Abfüllen des Bottichbieres auf Flaschen wird die Säurebildung durch Zugabe von frischen Milchsäurebakterien in den zugesetzten Kräusen wieder angeregt und nimmt mit der Zeit der Lagerung beträchtlich zu und zwar bei warm geführten Bieren stärker als bei kalt geführten. Um die Lebensenergie der Bakterien in den einzelnen Stadien der Bottichgärung zu veranschaulichen, wurden zu verschiedenen Zeiten Proben aus dem gärenden Bier entnommen und davon Vaseline-Einschlußpräparate angefertigt. Die am Anfang der Gärung entnommene Probe zeigte die kräftigste Vermehrung, bei später entnommenen Proben nahm stufenweise mit der Länge der Gärung Entwickelung und Formbildung der Bakterien ab; die aus einem 5 Tage in Gärung stehenden Biere entnommenen Bakterien waren im Einschlußpräparat überhaupt nicht mehr entwickelungsfähig.

Mohr (Berlin).

Rommel, W., Ueber einige Fruchthefen von Werder. (Wochenschr. f. Brauerei. XIX. No. 12. p. 176—178).

Aus trübe gewordenem Flaschenbier, das aus Werder a. H. stammte, waren vor längerer Zeit im Institut für Gärungsgewerbe zwei wilde Hefen isoliert und reingezüchtet worden, von denen Verf. vermutete, daß sie aus den Werder'schen Obstgärten stammten. Verf. isolierte aus einer Anzahl Frucht- und Saftproben aus Werder'schen Fruchtpressereien die darin enthaltenen Hefearten, konnte aber darunter die beiden wilden Hefen nicht auffinden.

Von Himbeeren, die bald nach dem Pflücken zu gären begannen, konnte Verf. eine Ellipsoideus- (No. 696) und eine Apiculatus-ähnliche Hefe (No. 697 und 698) isolieren, aus fast völlig vergorenem Erdbeersaft nur eine Ellipsoideus-Hefe. Eine weitere Himbeer-

probe ergab außer einer Ellipsoideus- eine Torula-Art (No. 703). Von Stachelbeeren ließ sich außer S. apiculatus noch eine Pastorianus-Art (No. 695) isolieren, von Johannisbeeren wieder Torula-Kolonieen und eine Ellipsoideus-Hefe (No. 701—702). Alle Proben enthielten außerdem Bakterien und Schimmelpilze, namentlich Mucor-Arten.

Von dem mikroskopischen Befund der Untersuchung dieser auf ungehopfter Würzegelatine weitergezüchteten Hefen und ihrem Verhalten zu ungehopfter Würze wird folgendes erwähnt:

Wenig oder gar nicht vergoren wird ungehopfte Würze von No. 695, 697, 698, 701, 702, 703, sehr heftig und weitgehend vergärt No. 696. No. 695 zeigt etwas kugelige Zellform, Länge der Zellen ca. 10 μ. Homogenes Plasma. In fast jeder Zelle 1—2 deutlich sichtbare Vakuolen. No. 696 ovale Zellen mit körnigem Plasma. Vakuolen weniger häufig sichtbar. No. 697 und 698 miteinander identisch, Länge durchschnittlich 8 μ; neben citronenähnlichen Formen finden sich runde oder nur einseitig zugespitzte. No. 701 und 702, ebenfalls miteinander identisch; in allen älteren Kulturen beider Hefen fanden sich zwei Typen von Zellen vor: sehr lange wurstförmige oder elliptische, in monopodialen Sproßverbänden wachsende Zellen und runde, zur Sporenbildung neigende Zellen. No. 703 kreisrunde, 5—6 μ im Durchmesser messende Zellen, Vakuolen und Fett reichlich vorhanden, in Adhäsionskulturen bisweilen Sporen gefunden. In einer weiteren Tabelle giebt Verf. eine Uebersicht des Gärvermögens der genannten Hefen gegenüber verschiedenen Zuckerarten, wegen welcher auf das Original verwiesen wird. Mit sämtlichen Hefen wurden schließlich noch Gipsblockversuche angestellt, um über die Sporenbildung ein Urteil zu gewinnen. Außer der Torula bildeten nur noch Hefen No. 696 nach 14, No. 701 nach 36 Stunden Sporen. Mohr (Berlin).

Referate.

Almquist, Ernst und **Troili-Petersson, Gerda,** Mikroorganismerna i praktiska lifvet. Bakteriologiens utveckling och nutida ståndpunkt. [Die Mikroorganismen im praktischen Leben. Die Entwickelung und der jetzige Standpunkt der Bakteriologie.] Stockholm 1901.

Mit der vorliegenden Arbeit haben die Verff., von welchen der eine Professor der Hygiene, der andere Molkereibakteriologe ist, sowohl ein Buch, das ohne besondere Vorkenntnisse gelesen werden kann, als auch ein Lehrbuch für Studierende und Lehrer geben wollen. Die Darstellung ist deshalb durchgehends populär und, was für den obengenannten Zweck des Buches von Bedeutung ist; es ist anregend geschrieben. Es bildet eine ausgezeichnete Zusammenstellung der Thätigkeit der Mikroorganismen im praktischen Leben, sowohl der schädlichen als der nützlichen.

Im 1. Kapitel finden sich Biographieen und Porträts von L. Pasteur, R. Koch und E. Chr. Hansen. Im 2. Kapitel

werden die wichtigsten Arten der Mikroorganismen beschrieben und im 3. wird eine systematische Uebersicht der Mikroorganismen gegeben. Das 4. Kapitel behandelt das Wesen der Bakterienzelle, im 5. Kapitel werden die Mikroorganismen der Bierbrauerei und anderer technischen Gärungen besprochen und das 6. Kapitel ist der Zubereitung, dem Haltbarmachen und der Verderbnis der verschiedenen Nahrungsmittel gewidmet. Im 7. Kapitel stellen die Verff. den Kreislauf des Stickstoffes, des Kohlenstoffes und des Schwefels in der organischen Natur dar, im 8. Kapitel die ansteckenden Krankheiten, im 9. das Vorkommen der Mikroorganismen, im 10. die Nahrung und Lebensverhältnisse der Bakterien, im 11. die Verbreitung der Bakterien und diejenigen Methoden, mittels welcher wir uns gegen die Schädlichkeit dieser Lebewesen wehren können, und endlich im 12. und letzten Kapitel die Lebensäußerungen und Bedeutung der Mikroorganismen.

Da die ganze Arbeit nur 184 Seiten (inklusive Register) umfaßt, ist es einleuchtend, daß nur die Hauptpunkte gegeben werden können. Gegen ein paar Aeußerungen muß Ref. indessen Einspruch erheben. Die Ehre, die Verwandtschaft der Saccharomyceten mit den Exoasceen dargethan zu haben, gebührt nämlich de Bary und nicht dem Ref.; die Beobachtung des Myceliums der Saccharomyceten wurde von E. Chr. Hansen und nicht vom Ref. gemacht.

Das Buch ist nicht nur vom Standpunkte des Arztes und des Chemikers, sondern zugleich von dem des Botanikers geschrieben. In Disposition, Aufbau und in der Darstellung ist es eigenartig; falls es in einer Kultursprache geschrieben wäre, würde dasselbe außerhalb Schwedens gewiß manche Leser finden.

Klöcker (Kopenhagen).

Hinze, G., Ueber den Bau der Zellen von Beggiatoa mirabilis. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. Bd. XIX. 1901. p. 369.)

Die Zellen von Beggiatoa mirabilis lassen in ihrem Inneren einen deutlichen Plasmaschlauch und mehrere von plasmatischen Platten getrennte Vakuolen unterscheiden. Im Plasma liegen oft sehr zahlreiche, stark lichtbrechende Schwefelkörner. Ein Gegensatz zwischen einer protoplasmatischen Rinde und einem Centralkörper im Sinne Bütschli's war nicht aufzufinden. Ebensowenig ließ sich ein Zellkern unterscheiden. Die Zellen sind somit als kernlos zu betrachten.

Die Wände der Zellen geben keine Cellulosereaktion, färben sich aber mit den Anilinfarben, welche zu Pektinstoffen besondere Affinität haben. Die Längswände bestehen aus zwei Schichten von verschiedener Quellbarkeit, die sich von einander ablösen, wenn man die Fäden mit Chlorzinkjod oder Chloralhydrat behandelt. Bemerkenswert ist, daß die Zellen der Beggiatoa sich durch Salpeter-, Zuckerlösung u. s. w. nicht plasmolysieren lassen. „Wenn es gelang, eine Kontraktion des Plasmakörpers hervorzurufen, so schrumpfte entweder die ganze Membran mit zusammen oder sie spaltete sich und die innere Membran-

schicht blieb im Zusammenhang mit dem schrumpfenden Protoplasma."

Bei Färbung von Mikrotomschnitten mit Hämatoxylin wurden zahlreiche Klümpchen einer färbbaren Substanz sichtbar, die Verf. als Chromatinkörner bezeichnet. Außerdem enthalten die Zellen anders geartete Körnchen, die sich mit Jod bläulich oder bräunlich färben. Im Speichel lösen sie sich langsam. Verf. nennt sie „Amylinkörner".

Die Vermehrung der Beggiatoa findet durch Teilung der Zellen und Zerbrechen größerer Fäden statt. Die Zellteilung ist intercalar und wird — ähnlich wie bei Spirogyra etc. — durch Bildung einer Ringleiste eingeleitet, die sich dann in der Mitte zu einer vollkommenen Querwand zusammenschließt.

Küster (Halle a. S.)

Wehmer, C., Die Pilzgattung Aspergillus in morphologischer physiologischer und systematischer Beziehung unter besonderer Berücksichtigung der mitteleuropäischen Species. (Mémoire couronné par la Société de physique et d'histoire naturelle de Genève Prix de Candolle). — Mémoires d. l. Société d. phys. et d'histoire nat. de Genève. T. XXXIII. 2. part. No. 4. Genf 1901. Avec 5 pl.)

Die einzelnen Kapitel behandeln nach Aufzählung der Aspergillus-Litteratur mit 185 Nummern und einleitenden Bemerkungen, kurz die Geschichte, Morphologie, Physiologie, Kultur und Systematik der Gattung; angefügt ist eine tabellarische Uebersicht der Species, sowie Verzeichnis der Speciesnamen; auf den 4 Tafeln sind ca. 20 Arten abgebildet, die fünfte farbige Tafel giebt das Aussehen der auf Nährlösung gezogenen Decken wieder.

Die Artbeschreibung gruppiert zunächst nach der Farbe (grüne, weiße, schwarzbraune, gelb-rötlich-braune Species), ihr geht eine kurze Uebersicht nach den für die Unterscheidung in Frage kommenden Merkmalen vorauf, kürzere Diagnosen der besser gekannten Arten bilden den Schluß. Aufgezählt sind 110 Species, die, kritisch gesichtet, gruppenweis beschrieben werden; die Zahl der sichergestellten entspricht nur einem Bruchteil. Bei jeder Artbeschreibung werden berücksichtigt: Litteratur, Synonyme, Morphologie, Dimensionen und Vorkommen, Kultur, Physiologisches (Temperatur, Wirkungen: Gelatineverflüssigung, Farbstoffbildung, Gärwirkung; Farbstoffe, Keimdauer u. a.), so daß ein möglichst vollständiges Bild der Art zu geben versucht wird. Die Anordnung ist folgende:

A. grüne Species.

I. Sichergestellte: A. glaucus Lnk., A. clavatus Desm., A. fumigatus Fres., A. Oryzae (Ahlbg.), A. nidulans Eid., A. varians Wehm., A. minimus Wehm., A. flavus Lnk., A. pseudoclavatus Purw., A. giganteus Wehm., (kritisch sind A. repens (de By.), A. medius Meißn.)

II. Alte und zu streichende: A. virens Luk., A. microsporus Bök., A. mucoroides Cord., A. macrosporus Bon., A. Hageni Hall., A. Micheli Preuß., A. griseus Lnk., A. olivaceus Preuß., A. malignus Lindt.

III. Nichtdeutsche Species, meist kritisch, jedenfalls oft unvollständig beschrieben: A. aviarius Peck., A. Quininae Heim., A. clavellus Peck., A. variabilis Gasp., A. cinereus Speg., Sterigmatocystis virens

v. Tiegh., St. olivacea v. Tiegh., St. glauca Bain., St. minor Bain., St. varia Bain., St. prasina Bain., St. chlorina Cook et Mass., A. brunneo-virens Delacr., A. olivaceus Delacr., A. penicillioides Spegazz.

B. Weiße Species.

Sehr revisionsbedürftig, wahrscheinlich meist synonym.

I. Einheimische: A. candidus (Lnk.?) Wehm., A. albus Wilh., A. candidus (Lnk.) Sacc., A. dubius Cord., Sterigmatocystis candida (Sacc.) Schröt.

II. Ausländische: A. stercoreus Sacc., A. Mülleri Berk., A. mollis Berk., A. fimetarius Peck., Sterigmatocystis italica Sacc., St. candida Sacc., St. dubia (Cook et Berk.) Sacc., St. pulchella Speg., St. coronata v. Tiegh., St. alba v. Tiegh., St. candida Bain., St. coronella Cost.

C. Schwarzbraune Species.

I. Wohlcharakterisierte: A. niger (Cram.) v. Tiegh., A. Ficuum, P. Henngs.

II. Zu streichende: A. nigrescens Rob., A. nigricans Wred.

III. Ausländische, gutenteils unvollständig beschrieben und wohl kritisch: A. nigricans Cooke., A. fuliginosus Peck., A. cimmerius Berk. et C., A. Cookii (Cook.) Sacc., A. nanus Mont., A. phaeocephalus Dur. et Mont., A. echinosporus Sorok., A. brunneus Delacr., Sterigmatocystis carbonaria Bain., St. violaceo-fusca (Gasp.) Sacc., St. Phoenicis (Cord.) Patouill. et Delacr., St. Ustilago (Beck.) Sacc.

D. gelbe, braungelbe, braune, rötliche Species:

I. Besser beschriebene, teils wohl synonyme: A. sulfureus (Fres.), A. ochraceus Wilh., A. Rehmii Zuk., A. spurius (Schröt.), A. Ostianus Wehm., A. Wentii Wehm.

II. Unvollständig beschriebene alte, wohl zu streichende: A. laneus Lnk., A. flavus Bon., A. ferrugineus Lnk. u. Fuck., A. fuscus Bon., A. olivaceus Preuß., A. flavescens Wred., A. roseus Lnk.

III. Ausländische, gutenteils aber unvollständig beschrieben und zweifelhaft oder doch unkenntlich: a) gelbe Arten. A. sulfureus (Desm.) Sacc., A. flavidus Berk. et Br., A. fimeti Sacc. et Speg., A. alutaceus Berk. et Br., A. spiralis Grov., Sterigm. lutea v. Tiegh., St. lutea Bain., St. lutea-alba Bain., St. butyracea Bain., St. vitellina Ridl., b) ockerfarbene und braune: A. africanus Dur. et Mont., A. terricola March., Sterigm. fusca Bain., St. ferruginea Cook., St. elegans (Gasp.) Sacc. St. Delacroixii (Delacr.) Sacc., St. pulverulenta Mc. Alpin. c) rötliche und rotbraune: A. carneolus Sacc., A. ochraceo-ruber Sacc., A. erythrocephalus Berk. et C., A. purpureo-fuscus Schw., A. rubens Green., Sterigm. carnea v. Tiegh., St. fulva (Mont.) Sacc., St. purpurea v. Tiegh., A. rufescens Berl. d) olivbraune: A. subfuscus Joh.-Ols., Sterigm. dasytricha Ell. et Ev. e) graue: A. subgriseus Peck., A. argentinus Speg. (siehe Nachtrag p. 149).

Zu ergänzen wären da bis heute noch: A. Welwitschiae (Bres.) P. Henngs. (ist ein A. niger) und A. Penicillopsis Racib. (gelblichgrün.), A. luchuensis Jnui (1901), A. bronchialis Blumt. (1901), der eine schwarzbraun, der zweite grün; A. perniciosus Jnui (1901), graubraun.

Ohne das außerordentliche Verdienst Saccardo's irgendwie herabmindern zu wollen, darf man doch behaupten, daß nach der „Sylloge“ eine Orientierung nicht ganz leicht ist; hier stehen zweifelhafte und offenkundig hinfällige Species gleichwertig neben vollberechtigten; allerdings ist der Versuch, da zu sichten, mißlich, unstreitig darf aber alles, was unvollständig, bezw. unkenntlich beschrieben ist, von vornherein abseits gestellt werden, wenn überhaupt eine klare Uebersicht gewonnen werden soll. Für die Artunterscheidung und Bestimmung ist das genauere Studium des Conidienträgers unumgänglich, aber auch die mehrfach durch Alter und Substrat beeinflußte Farbe der Rasen ist wichtig, so daß für

Diagnosen stets Kulturversuche erforderlich sind; ohne diese sollten neue Species überhaupt nicht gemacht werden. Viele der alten oder unvollständig beschriebenen Arten dürften schon dieserhalb und im Interesse der Sache zu streichen sein.

Schlauchfrüchte sind bislang von sehr wenigen (3—4) Species bekannt, da solche überdies verschiedener Art, empfiehlt sich kaum Absonderung derselben in eine besondere Gattung (Eurotium), auch die Abtrennung der Gattung Sterigmatocystis geht nicht glatt, weil bei einigen Arten neben verzweigten auch einfache Sterigmen vorkommen. Vielleicht ließe sich nach dem gesammten Conidienträger-Habitus eine Mehrzahl von Gruppen bilden. Für Unterscheidungszwecke ist die Conidiengröße mehrfach ein wichtiges Merkmal. Für die wichtigeren, meist aus eigener Anschauung bekannten oder selbst kultivierten Arten sind p. 131—142 einheitlich gearbeitete, von früheren in einigen Einzelheiten abweichende Diagnosen gegeben, deren Detail am Schlusse tabellarisch zusammengestellt ist.

Autorreferat.

Fischer, Ed., Die Uredo- und Teleutosporengeneration von Aecidium elatinum. (Ber. d. d. Bot. Ges. Bd. XIX. 1901. p. 397.)

Den zum Aecidium elatinum gehörigen Teleutosporenwirt entdeckte Verf. in der von Melampsorella cerastii reichlich infizierten Stellaria nemorum. Verf. ließ die von dieser abgenommenen Teleutosporen keimen und infizierte mit den gewonnenen Basidiosporen junge Weißtannentriebe. Andererseits wurden Pflanzen von Stellaria nemorum mit Sporen des Aecidium elatinum besät. Beide Versuchsreihen führten zu positiven Resultaten. Küster (Halle a. S.).

Ruhland, W., Ueber die Ernährung und Entwickelung eines mycophthoren Pilzes (Hypocrea fungicola Karst. (Separatabdr. aus Abhandl. d. Bot. Vereins d. Provinz Brandenburg. Bd. XLII. 1901. p. 53—64. Mit Taf. III.)

Nachdem Verf. auf die nahe Verwandtschaft der auf Polyporus-Hüten wachsenden Hypocrea fungicola Karst. mit der saprophytischen H. citrina Fr. hingewiesen, legte er sich die Frage vor, „ob die Mycophthorie bei der ersten Art durch Anpassung vielleicht an einen bestimmten chemotropischen Reiz erblich geworden und so von spezifischem Wert sei“. Zur Erledigung dieser Frage stellte er die natürlichen Lebensbedingungen der H. citrina her und säte Sporen der H. fungicola darauf aus. Diese keimten zwar, doch gingen die Kulturen bald nach dürftiger Weiterentwickelung zu Grunde. Die zur Kontrolle angesetzten Kulturen von H. citrina gelangten bis zur Stromabildung.

Dieses Ergebnis bestätigt also die oben ausgesprochene Vermutung.

Danach behandelt Verf. die Frage, ob der Pilz noch weitergehende Ansprüche an das Substrat stellt, ob er vielleicht nur an toten oder nur an lebenden Hüten oder gleichzeitig an beiden

eine Infektion hervorrufen könne. Die Resultate der hierauf bezüglichen Versuche sind folgende: 1) Der Pilz vermag auf totem Substrat zu keimen und sich bis zur Askenfruktifikation zu entwickeln. 2) Lebenskräftige Polypori können durch den Pilz infiziert werden; auch hier findet unter günstigen Umständen eine vollständige Entwickelung statt.

Ueppiger freilich entwickelte sich der Pilz, wenn er in einer künstlich erzeugten Wundstelle einen Angriffspunkt findet.

Darauf wandte sich Verf. dem Studium der resorptiven und deformatorischen Thätigkeit des Pilzes zu. Es zeigte sich, daß zuerst den Hyphen des Wirtes der plasmatische Inhalt entzogen wird. Doch geschieht dies nicht durch Haustorien, sondern durch Anlegen der Hyphen des Parasiten an die des Wirtes, so daß also die entzogenen Substanzen durch Diffusion die Wände der Hyphen beider Pilze zu passieren haben.

Nach der Entziehung des Inhaltes werden aber auch die ihres Inhaltes beraubten Hyphen vollständig resorbiert. Die dadurch im Wirt entstehenden Lücken werden sofort von den Hyphen der Parasiten ausgefüllt.

Der übrige Teil der Arbeit umfaßt die Entwickelung des Pilzes, die Verf. an Schnitten durch den Pilz sowie an Reinkulturen studierte. Letztere führten zur Conidienbildung, während die Anlage von Perithecien nicht beobachtet wurde. Unter natürlichen Verhältnissen treten Conidien nie so reichlich auf wie in Kulturen. Während der Conidienbildung ist das Mycel tiefer in den Pilz gedrungen und hat an der Oberfläche ein Paraplastenchym gebildet, welches nach innen zu in ein Prosoplektenchym übergeht, in welchem die Perithecien angelegt werden. In diesen konstatierte Verf. in Uebereinstimmung mit Ed. Fischer sehr feine Paraphysen.

Bezüglich der Periphysen ist er der Ansicht, daß dieselben durch Verengerung des Tubulus immer nur wenigen Schläuchen, und immer den längsten und reifsten den Eintritt in denselben zum Zwecke der Entleerung gestatten. Dann aber werden die Periphysen die jungen Schläuche und Sporen gegen Austrocknen schützen und Fremdkörpern das Eindringen von außen verwehren.

In den Asken wurden entgegen den Ansichten Tulasne's und Brefeld's 16 durch freie Zellbildung entstandene Sporen beobachtet, wie schon Currey konstatiert hatte, nicht 8 zweizellige, deren Zellen sich nachher trennen sollten.

Am Schlusse weist Verf. noch auf den reichlichen Gehalt der Paraplektenchymzellen an Glykogen hin und spricht die Vermutung aus, es handle sich hier um ein nutzlos gewordenes Endprodukt des Stoffwechsels. Paul (Berlin).

Thaxter, Roland, Preliminary diagnoses of new species of Laboulbeniaceae. — III. and IV. Contributions from the Cryptogamic Laboratory of Harward University XLV and XLVII. (Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences. Vol. XXXVI. 1901. p. 397—414 Vol. XXXVII. 1901. No. 2. p. 21—45.)

Der unermüdliche Laboulbeniaceenforscher beschreibt in den beiden Abhandlungen weitere 61 neue Laboulbeniaceenspecies, die er bei einer im Sommer 1900 stattgehabten Revision der Insekten des Berliner naturwissenschaftlichen Museums, namentlich der Fliegensammlung von Prof. Dall von Ralum in Neu-Pommern bei Neu Guinea, sodann in der Sammlung von Dr. David Sharp zu Cambridge in England (namentlich auf Käfern der Staphyliniden und Gyriniden und auf Carabiden von den Hawaischen Inseln) aufgefunden hat. Eine Anzahl neuer Arten erhielt er ferner aus Amerika durch Mr. Charles Bullard und auf Fliegen, die W. T. Clarke zu Berkeley, Kalifornien, Verf. selbst zu Kittery Point, Maine und in der Nähe von Cambridge im September 1900 gefangen.

Von besonderem Interesse sind die vielen neuen Arten auf Fliegen. Es werden 7 neue Gattungen: Ceraiomyces, Eumonoicomyces, Euhaplomyces, Dioicomyces, Acompsomyces, Stichomyces, Kainomyces aufgestellt. Die neuen, sämtlich vom Verf. selbst aufgestellten Arten sind die folgenden:

Stigmatomyces rugosus auf kleinen Fliegen, Ralum,

St. Diopsis auf Diopsis sp., Bismarckburg, Togo, Ostafrika,

St. Scaptomyzae auf Scaptomyza graminum Fallen, Kittery Point, Cambridge Mass., Berkeley,

St. Limnophorae auf Limnophorus sp., Berkeley,

St. humilis auf einer größeren Fliege, Ralum

St. constrictus auf einer kleinen Fliege, Ralum,

St. dubius auf einer Fliege, deren Vorderbeine ähnlich wie bei Ochtheria mantis entwickelt sind, Ralum,

St. gracilis auf derselben Fliege, Ralum,

St. proboscideus auf Fliegen, Ralum,

St. Hydrelliae auf Hydrellia sp., Kettery Point,

St. purpureus auf Scatella stagnalis Fallen, Kittery Point, Cambridge Mass.,

St. spiralis auf Hydrina sp., Kittery Point,

St. Limosinae auf Limosina fontinalis Fallen, Kittery Point, Cambridge, Berkeley,

St. Papuanus an 3 verschiedenen Fliegen aus der Verwandtschaft von Limosina, Ralum,

Arthrorhynchus Cyclopodiae auf Cyclopodia macrura Speiser, Neu-Pommern,

A. Eucampsipodae auf Eucapsipoda Hyrtli Kol., Egypten,

Rhizomyces gibbosus auf Diopsis Tanga, Afrika,

Ceraiomyces Dahlii n. g. et sp. auf einer kleinen Fliege, Ralum,

Dimeromyces coarctatus auf einer kleinen Fliege, Ralum,

D. rhizophorus auf einer kleinen Fliege, Ralum,

D. crispatus auf einer kleinen Fliege, Ralum,

Eumonoicomyces Papuanus n. g. et sp. auf einer kleinen Art von Oxyteles, Ralum,

Eu. Californicus n. g. et sp. auf Oxyteles, Berkeley,

Monoicomyces Echidnoglossae auf Echidnoglossa Americana, Vera Pass. Colorado,

M. furcillatus auf Aleochara repetita Sharp., Panama,

M. Aleocharae auf Aleochara rufipes Bch., Derema, Usambara, Ostafrika,

Euhaplomyces Ancyrophori n. g. et sp. auf Ancyrophorus aureus, Schottland,

Eucantharomyces Xanthophaeae auf Xanthophaea vittata Dej., Australien,

Dichomyces bifidus auf Philonthus sp., Ralum,

D. Belonuchi auf Belonuchus fuscipes Fauvel., Neu Guinea,
D. Australiensis auf Quedius ruficollis Grav.,
D. Mexicanus auf Philonthus atriceps Sharp., Jalapa, Mexiko,
D. Homalotae auf Homalota sordida March., Fresh Pond, Cambridge,
Peyritschiella Xanthopygi auf Xanthopygus Solskyi Sharp.,
Chitonomyces occultus auf Cnemidotus, Lake Eustis, Florida,
Ch. psittacopsis auf Laccophilus, Lake Eustis, Florida,
Ch. Bullardi auf Cnemidotus R. punctatus Say, Glacial Pont, Cambridge,
Ch. Hydropori auf Hydroporus modestus Aubé, Cape Neddock, Maine,
Ch. Orectogyri auf Orectogyrus specularis Aubé, Afrika,
Dioicomyces Anthici n. g. et sp. auf Anthicus floralis, Cambridge; auf A. Californicus, Californien,
D. onchophorus auf Anthicus floralis, Cambridge,
D. spinigerus auf Anthicus floralis, Cambridge,
Teratomyces Zealandicus auf Quedius insolitus Sharp., Neuseeland,
T. petiolatus auf Quedius sp., Neuseeland,
T. insignis auf Quedius n. sp., Neuseeland,
Accompsomyces Corticariae n. g. et sp. auf Corticaria sp., Berkeley,
Stichomyces Conosomae n. g. et sp. auf Conosoma pubescens Payk., Belmont und Waverly, Mass.,
Rhachomyces Oedichiri auf Oedichirus sp., Rio de Janeiro, Brasilien,
Rh. glyptomeri auf Gryptomerus cavicolus Müll., Kärnthen,
Rh. Dolicaontis auf Dolicaon Lathrobioides Casteln, Kap, Südafrika,
Sphaleromyces Quedionuchi auf Quedionuchus impunctus Sharp., San Andres, Vera Cruz,
Sph. Chiriquentis auf Quedius flavicaudus, Panama,
Sph. Indicus auf Pinophilus, Malabar, Indien,
Corethromyces Latonae auf Latona spinolae Guér., Bogota, Columbien,
C. Stilici auf Stilicus rufipes, Germ, Europa,
Ceratomyces spinigerus auf Tropisternus apicipalpus, Jalapa, Mexiko,
C. procerus auf Tropisternus sp., San Fidelio, Brasilien,
C. curvatus auf Tropsisternus Coracinus N., Caracas,
C. Mexicanus auf Tropisternus nitidus Sharp. u. T. chalybeus Cast., Oaxaka, Mexiko,
C. Brasiliensis auf Tropisternus nitens Cast., Rio de Janeiro,
Kainomyces Isomali auf Isomalus Conradti, Usambara, Ostafrika.

Ludwig (Greiz).

v. Speschnew, N. N., Beiträge zur Kenntnis der Pilzflora des Kaukasus. III. Fungi parasitici transcaucasici novi aut minus cogniti. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XI. Heft 2/3. p. 82—89. Mit 1 Taf.)

Pseudocommis Theae sp. nov. verursacht eine Erkrankung der Blätter von Thea sinensis und Th. assamica in der Umgegend von Batum. Die Oberhautzellen sind leer, aber die Pallisadenzellen sind dicht mit strangartigen Plasmodien gefüllt, die erst in Klümpchen und später in polygonale Zellen mit glatter Oberfläche und fein granulösem Inhalt zerfallen.

Ustilago Reiliana Kühn verbreitet sich auffallend auf Sorghum halepense.

Physalospora baccae Cav., die bisher im Weingebiete des Kaukasus noch nicht gefunden worden war, ist in verschiedenen Gegenden, zunächst allerdings noch nicht in größerer Menge, aufgetreten.

Phoma reniformis Viala et Ravaz und Ph. flaccida V. et R. ver-

einigt Sp. ebenso wie Woronin und Jaczewsky und giebt eine ausführliche Diagnose für diese erweiterte Species. Bekanntlich findet sich die Krankheitserscheinung des Black-Rot im ganzen Kakasus.

Molissia sporonemoidis n. sp., eine neue, auf den Blättern des Weinstockes parasitär auftretende Art.

Sorosporium Ipomoeae sp. n. Bisher sehr selten, auf den Blättern von Ipomaea. Teleutosporen bisher noch nicht gefunden.

Peridermium columnare Kunze et Schum., auf Abies Nordmanniana sehr stark auftretend.

Phyllosticta Ampelopsidis n. sp., häufig auf den Blättern von Ampelopsis.

Cicinnobulus Cesatii de Bary findet sich überall in Katetien als Parasit auf den Hyphen von Sphaerotheca Castagnei und Sph. pannosa, nicht aber auf Oïdium. Da die Pykniden dieses Pilzes größer und breiter sind als die des Oïdium-Schmarotzers, so erscheint es wahrscheinlich, daß hier eine besondere Art oder doch Form vorliegt.

Frankiella viticola n. sp. scheint mit der Weißfäule in irgend einem, bisher noch nicht aufgeklärten Zusammenhange zu stehen.

Diplodia uvicola n. sp., der D. viticola sehr ähnlich, aber auf den Beeren Flecken bildend.

Stagonospora uvarum n. sp. Bisher nur an einem Orte auf den Beeren des Weines gefunden.

Hendersonia vitiphylla n. sp. Nicht häufig, in Katetien auf lebenden Blättern des Weinstockes. Ist vielleicht identisch mit H. ampelina Thümen, die in Nordamerika auf toten Zweigen gefunden wurde.

Hendersonia theïcola Cooke et Septoria Theae Cav. Kommen beide nicht häufig vor und sind bisher nicht als eigentliche Schädlinge zu betrachten.

Clasterosporium putrefaciens Frk. var. crucipes n. var. Diese Varietät, welche in Tiflis auf den Blättern von Morus alba und Vitis vinifera gefunden wurde, zeichnet sich durch eine auffallend große, durch zwei gekreuzt stehende Wände geteilte Basalzelle aus.

Cycloconium oleaginum Castagne. Ein bedeutender Schädling der Olive, gegen den eine 1,5-proz. Bordeauxbrühe mit Vorteil angewendet wurde.

Colletotrichum Gossypii Southw. tritt ab und zu in nassen Sommern auf.

Pestalozzia viticola Cav. wird erst seit 1897 beobachtet.

Dendryphium Passerianum Thümen, selten auf Rebenblättern von Katetien.

Coryneum Beijerinckii Oud. ist auf Prunus avium und Amygdalus persica in Katetien, Katalonien und Imeretien ungemein verbreitet.

Melanconium fuligineum Cav., das die Bitterfäule des Weines erzeugt, wurde seit 2 Jahren an der Küste des Schwarzen Meeres, seit 1897, beobachtet.

Die Abbildungen der Tafel beziehen sich auf Pseudocommis Theae, Molissia sporonemoides, Sorosporium Ipomoeae, Phyllosticta Ampelopsidis, Franckiella viticola, Diplodia uvicola, Stagonospora uvarum, Hendersonia vitiphylla und Clasterosporium putrefaciens var. crucipes. Appel (Charlottenburg).

Ray, Julien, Les maladies cryptogamiques des végétaux. (Rev. gén. de Bot. T. XIII. 1901. p. 145.)

Mit Hilfe derselben Methoden, durch welche es gelingt, Tiere und Menschen immun gegen pathogene Organismen zu machen, will Verf. auch die Pflanzen gegen ihre natürlichen Feinde schützen. Verf. hält es für möglich, sie durch Infektion mit Organismen geringer Virulenz an die Wirkungen der Parasiten (Pilze, Bakterien) zu gewöhnen oder sie dadurch giftfest zu machen, daß ihnen die Säfte immuner Individuen zugeführt werden. Außer diesen deutet

Verf. noch andere Mittel an, welche nach seiner Auffassung zum Pflanzenschutz heranzuziehen wären; die kurzen Angaben über seine bisherigen Erfolge sind wenig überzeugend.

Küster (Halle a. S.).

Rübsamen, Ew., H., Mitteilungen über neue und bekannte Gallen aus Europa, Asien, Afrika und Amerika. (Entomol. Nachrichten. Jahrg. XXV. p. 225—282. Mit 2 Taf. in Lichtdruck und 18 Textfiguren.)

Rübsamen, dem von vielen Seiten Bestimmungsmaterial von Gallen zugeht, beschreibt in der vorliegenden Arbeit eine größere Anzahl neuer Formen und bringt auch für schon bekannte mancherlei Neues bei. Geordnet sind die einzelnen Mitteilungen nach den Ländern ihres Vorkommens.

Aus Deutschland wird zuerst über einige wahrscheinlich durch Phytopten hervorgebrachte Blütendeformationen berichtet, die an Gräsern (Anthoxanthum, Bromus tectorum, Calamagrostis epigeios und Festuca ovina) aufgefunden worden sind; diesen schließt sich eine meist unterirdische Triebgalle an Calamagrostis an. Es folgen eine durch eine Diptere erzeugte beulenartige Verdickung des Schaftes von Hypochoeris radicata, eine Triebspitzendeformation an Isatis tinctoria, die möglicherweise auf Aphiden zurückzuführen ist, ein Dipterocecidium (Chloropine) in Form einer Triebverkürzung an Koeleria glauca, durch Cecidomyiden (Dichelomyia) verursachte Blattgallen an Lamium album, Phytoptocecidien an den Blättern von Linaria vulgaris, Blütendeformation bei Melandrium rubrum, durch Cecidomyiden hervorgerufen, an derselben Pflanze auch Blütenvergrünung durch Phytopten und an Poa pratensis flaschenartig verbildete Fruchtknoten mit Fadenwürmern als Erzeuger. — Eine eigentümliche Mißbildung an Polyporus, die von drei verschiedenen Forschern im Böhmer Walde gesammelt wurde, wird beschrieben, ohne daß es bis jetzt möglich gewesen wäre, eine richtige Deutung zu finden. — Ein Lepidopterocecidium an den Zweigspitzen von Quercus pedunculata, die Blattgalle von Cecidomyia nervorum auf dem neuen Substrate, Salix cinerea, und eine Blütendeformation durch Cecidomyien an Silene otites folgen. Sisymbrium Alliaria und Thalianum tragen beide spindelförmige Anschwellungen der Blattstiele und Stengel, die durch Schmetterlingslarven hervorgebracht zu sein scheinen; Thrincia hirta endlich wurde mit schwachbauchigen Anschwellungen des Schaftes beobachtet, aus denen sich Agromyzinen entwickelten.

Aus der Schweiz, Tirol, Italien und Griechenland werden Gallen von Centaurea aspera, Coronilla Emerus, Hieracium murorum, Meum atamanticum, Plantago alpina, Quercus macrolepis, Qu. suber und Smyrnium rotundifolium beschrieben.

Aus Rußland finden sich vorwiegend neue Substrate für bekannte Arten mitgeteilt.

Asiatische Gallen sind beschrieben aus Kleinasien an

Celtis australis, Populus nigra, Quercus Vallonea, Salix und Tilia sp.; aus Kurdistan und Persien an Onosma Balbotrichum und Populus euphratica; aus dem Altaigebiete an Cotoneaster vulgaris, Linaria sp., Onosma polyphyllum und Salix sp.; aus Indien an Grewia microcos (Pediculoides Grewiae n. sp.) und aus Sumatra an Elatostema sp., Leea sp., Meliosma sp., Turpinia sp. und einer nicht näher bestimmten Rubiacee. Das diese letztere Galle bewohnende Tier ist besonders eingehend beschrieben und abgebildet und als neue Art einer neuen Gattung, Pauropsylla udei, aufgestellt.

Afrika lieferte zu der Arbeit Gallen an: Citrus aurantium, Combretum sp., Commelina communis, Diospyros mespiliformis, Erica scoparia, Eriobothrya japonica, Fagonia thebaica und Vitis sp. (Asphondylia Baumanni n. sp.).

Amerikanischen Ursprunges sind Gallen an Sapindus sp., Argania Sideroxylon?, Schinus molle, Senecio Falklandicus und Solanum elaeagnifolium.

Im ganzen umfaßt die Arbeit Beiträge über 101 Gallen.

Appel (Charlottenburg).

Cavara, F., Di un nuovo acarocecidio della Suaeda fruticosa osservato in Sardegna. (Bull. d. Soc. bot. Italiana. 1900/1901. No. 3.)

Während bekanntlich die Milben der Eriophydeen-Gruppe nur die Blätter der Pflanzen angreifen, fand Verf. eine derselben in Zweigen von Suaeda fruticosa bei Cagliari in Sardinien, auf denen sie große Gallen und reichliche Verzweigung (scopaccio) verursachte. Diese Milbe wurde von Nalepa, dem Verf. einige Gallen zugesendet hat, als Eriophyes caulobius Nal. erkannt.

Montemartini (Pavia).

Thomas, Fr., Kleiner Beitrag zur Kenntnis der Stengelgalle von Aulax scabiosae (Gir.) an Centaurea Scabiosa. (Mitteil. d. thüring. bot. Vereins. N. F. Heft 15. p. 45—48.)

Nach einigen bei Meiningen von Koch gesammelten Exemplaren ergänzt Th. die Beschreibungen, die Giraud (1859), Schenck (1865), Mayr (1876) und Kieffer (1899) von dieser Galle geliefert haben, und stellt dabei fest, daß die Dimensionen des Cecidiums sehr variabel sind. Besonders wichtig ist aber, daß bei allen bisherigen Beschreibungen eigentümliche, flache, kreisrunde Eindrücke auf der Oberfläche der Galle übersehen worden sind. Diese deutet Th. als Narben der Stichstellen, durch welche das Weibchen der Gallwespe die Eier in den Stengel eingebracht hat, und spricht die Vermutung aus, daß an diesen Stellen später die Fluglöcher der Wespen entstehen, so daß dieses Merkmal an den alten Gallen verschwunden ist. Appel (Charlottenburg).

Volkens, G., Ueber eine Schildlauskrankheit der Kokospalmen in Togo und auf der Karolineninsel Yap.

(Notizblatt d. kgl. bot. Gartens etc. Berlin. Bd. III. 1901. No. 25. p. 85—90.)

Auf Yap beobachtete Volkens zuerst im Jahre 1899 eine schwere Schädigung der Kokospflanzungen durch Schildläuse, die Palmen jeden Alters befallen hatte, und zwar wurden die sämtlichen Wedel so dicht mit Läusen besetzt, daß sie ohne jeden freien Raum vollständig von ihnen überzogen erschienen. Da die neu getriebenen Blätter ebenfalls sofort infiziert werden, muß der Baum nach Verbrauch des vorhandenen und nicht mehr neu zu bildenden Reservematerials absterben. So sind auf der Insel Tausende von Bäumen zu Grunde gegangen, besonders in solchen Strichen, wo die Palmen in geschlossenem Bestande ohne zwischengepflanzte andere Bäume vorhanden waren. Von diesen letzteren wurden übrigens auch Papaayon und Betelpfeffer, jedoch nur in geringerem Grade, angegriffen. Auf diese Weise wurden die Erträge an Nüssen, welche bisher 800 Tonnen Kopra jährlich zum Exporte lieferten, so geschmälert, daß Nahrungsmangel unter den Eingeborenen sich geltend zu machen begann, und infolge davon die Kopragewinnung vorläufig ganz eingestellt werden mußte. Da wegen der Höhe der am stärksten befallenen Bäume Bespritzungen mit infekticiden Mitteln sich schwer anwenden lassen, schlägt Volkens außer dem Verbrennen der abgefallenen Wedel die Einführung der auf Yap ganz fehlenden Coccinelliden von den Philippinen und Neu-Guinea her vor (wenn statt der von V. angeratenen Besprengung mit Kalkmilch Petroleum verwendet worden wäre, so würde die direkte Bekämpfung doch wohl einigen Erfolg gehabt haben. Ref.).

Auch in Togo haben neuerdings die Kokosplantagen unter der Schildlauskrankheit schwer zu leiden, die von der Goldküste hergekommen zu sein scheint. Doch findet sich hier zugleich mit dem Schädling, einer Diaspide, ihr Feind, die Coccinellide Chilocorus Schiödtei, in großer Menge vor. Da man an Ort und Stelle zuerst diesen Käfer und seine Larve für den Schädling hielt, den eigentlichen Feind jedoch übersah, ist eine wirksame Bekämpfung bisher nicht erfolgt. An der Goldküste scheinen jedoch mehr die älteren, weniger triebfähigen Bäume zu leiden, so daß die Gefahr dort nicht so unmittelbar auftreten wird, wie im Südsee-Schutzgebiete.

Arnold Jacobi (Berlin).

Gayon und **Dubourg**, Neue Untersuchungen über das Mannitferment. (Ann. de l'Inst. Past. 1901. p. 527—567.)

Die sogenannte Mannitkrankheit des Weines, welche bei unvorsichtiger Behandlung und unvollständiger Gärung zuweilen entstehen kann, ist erst vor wenigen Jahren näher untersucht und in ihrem Wesen erkannt worden und man darf sie wohl zur Zeit als eine der bestuntersuchten Weinkrankheiten betrachten. In den weitaus meisten Fällen dürfte man diese Krankheit bisher mit anderen Krankheiten, wie z. B. mit dem „Essigstiche“ und dem „Zickendwerden“, oder dem „Milchsäurestiche“ verwechselt haben. Und zwar konnte eine derartige Verwechselung um so eher vorkommen, als alle diejenigen Weine, welche einer

Mannitgärung anheimgefallen sind, meistenteils eine ganz abnorme Menge flüchtiger Säuren aufweisen und obendrein auch fast immer einen übermäßig hohen Gesamtsäuregehalt zeigen. (Cf. dieserhalb die Sammelreferate von Behrens, Die Infektionskrankheiten des Weines. (Bakt. Centralbl. Abt. II. 1896. p. 213.) und von Heinze, Einiges über die Krankheiten und Fehler beim Weine unter besonderer Berücksichtigung der Infektionskrankheiten desselben. (Hygienische Rundschau 1901. No. 8. p. 337) und weiterhin auch die Mitteilungen von Pelgion, Contributo allo studio della fermentazione mannitica dei vini (Bakt. Centralbl. II. Abt. 1898. p. 473). — Nach den früheren Untersuchungen der beiden Verff. Gayon und Dubourg, wie schon vorher nach den Mitteilungen von O. Charles, Roos, Dugast, Basilie und späterhin von V. Pelgion finden sich gar oftmals in Weinen mehr oder weniger große Mengen von Mannit vor. Und zwar gelangte man weiterhin auf die einschlägigen Untersuchungen hin zu der Ansicht, daß sich ausnahmslos in unvollständig vergorenem oder auch sonst bereits irgendwie erkrankten Weine Mannit vorfindet, und daß man die Krankheitsursache demnach in erster Linie in einer schlechten, fehlerhaften Gärführung zu suchen hat. Es wird obendrein die Mannitgärung durch große Wärme außerordentlich begünstigt. Nach den Untersuchungen der oben genannten Forscher wird die Mannitgärung durch einen Spaltpilz veranlaßt, welcher die Form von kurzen, unbeweglichen Stäbchen hat; diese hängen in kürzeren oder längeren Fäden zooglöenartig zusammen.

Wenn man die Spaltpilze in Most oder zuckerhaltigen Wein einträgt, so wird von ihnen der größte Teil des vorhandenen Zuckers in Mannit verwandelt bei gleichzeitiger Bildung von Essigsäure und Milchsäure. Oben wurde schon als Charakteristicum solcher Weine ihr hoher Gehalt an flüchtigen Säuren hervorgehoben, ferner muß aber auch ihr mehr oder weniger hoher Gehalt an unvergorenem Zucker betont werden.

Die schon früher unternommenen Versuche der beiden Verff. über die hier kurz erörterte Krankheitserscheinung des Weines sind von denselben neuerdings fortgesetzt worden und es werden nun weitere Mitteilungen über den Krankheitserreger gemacht. Der Erreger der Mannitgärung hat sein Wachstumsoptimum bei ca. 35° C. Bei 0° C ist er nicht mehr lebensfähig; ebenso wird er bei 58° C nach 2 Minuten, bei 60° C in noch kürzerer Zeit abgetötet. Wenn man sich als Nährboden für die Organismen Liebig'scher Zuckerbouillon bedient und verschiedene Antiseptica einwirken läßt, so erwies sich als wirksam in einer Verdünnung von 0,1 g pro Liter: arsenige Säure, Sublimat, Wismutsubnitrat, Wismutkarbonat, Salicylsäure; in einer Verdünnung von 0,2 g pro Liter: Kupfersulfat und Fluorammonium; und weiterhin bei Anordnung von 1 g pro Liter: Fluorkalium, Fluornatrium, Natriumsalicylat, Thymol und Naphthol. Selbst bei der letzteren Konzentration blieb noch unwirksam: Borsäure, Abastrol, Asaprol, Phenol, Salol, Tannin. Die Wirksamkeit des Mannitfermentes ist im Trauben-

moste ganz außerordentlich vom Säuregehalte abhängig, so daß in dieser Beziehung die Versuchergebnisse mit der praktischen Erfahrung im Einklange stehen, daß am leichtesten mannitkranke Weine aus säurearmen Mosten hervorgehen. Weiterhin häuften die Verff. die Wirksamkeit des Fermentes auf verschiedene Zuckerarten. Die verschiedensten Zucker wurden von den Bakterien fast allgemein angegriffen. Es wird jedoch Mannit einzig und allein aus Lävulose gebildet; aus anderen Zuckern wird von den vorliegenden Organismen Aethylalkohol gebildet. Als Nebenprodukte treten in allen Fällen CO_2, Essigsäure, Milchsäure, Bernsteinsäure und Glycerin nach den Beobachtungen der Verff. auf. Die durch Hefe vergärbaren Hexosen werden auch von den Mannitbakterien vergoren; ebenso die Sorbose. Von Pentosen wird zwar l-Xylose, nicht aber die l-Arabinose vergoren. Bei der Vergärung werden Saccharose, Maltose, Laktose und Raffinose nicht erst gespalten. Von besonderer Wichtigkeit aus den bekannt gegebenen Versuchsergebnissen ist nun, daß man das Mannitferment zum Nachweis der Lävulose in Zuckergemischen verwenden kann, da ja lediglich aus dieser Zuckerart Mannit durch die vorliegenden Organismen gebildet wird. Auf diese Weise könnte man also auch beweisen, daß der inaktive Zucker, welchen man in Rohrzuckern und Melassen vorfindet und als Vorstufe des Invertzuckers aufzutreten pflegt, sich in Lävulose und Glukose spaltet. Auf Grund ihrer weiteren Untersuchungen sehen die Verff. ihre frühere Ansicht bestätigt, daß man in der Mannitkrankheit eine spezifische Krankheit vor sich hat, welche sowohl vom Umschlagen als auch vom Bitterwerden verschieden ist. (Wenn man jedoch in einem Wein Mannit aufgefunden hat, so ist man noch keineswegs zu dem Schlusse berechtigt, daß man einen Wein vor sich hat, welcher durch Mannitbakterien einer Mannitgärung anheimgefallen ist. Wenn nämlich Weine aus stark grünfaulen Trauben hergestellt werden, so kann in denselben gleichfalls Mannit vorkommen, denn es wird bekanntlich von dem die Grünfäule hervorrufenden Schimmelpilz — Penicillium glaucum — gleichfalls Mannit als Stoffwechselprodukt secerniert. Man muß also gegebenenfalls sämtliche Eigenschaften eines Weines, wie Zustand, mikroskopisches Bild, chemische Zusammensetzung etc. berücksichtigen, um sicheren Aufschluß über die Art der Erkrankung zu gewinnen. D. Ref.). Durch Pasteurisieren und nachträgliches Verschneiden der mannitkranken Weine mit einem gesunden säurearmen Weine kann man bekanntlich einigermaßen eine Wiederherstellung bewirken; auch empfiehlt es sich, durch Pasteurisieren mit einer Reinhefe erst umzugären, wenn noch unvergorener Zucker vorhanden ist.

Heinze (Halle a. S.).

Walker, L. R., Bacteriological investigation of the Iowa State College sewage. (Proc. Ia. Acad. of Sci. 8. — Bull. Iowa State College 2. 1901. 22.)

Bildet einen zweiten Bericht über die an dem College betriebenen Abwässeruntersuchungen und speziell über das Ab-

wässersystem des genannten College [1]). Die bakteriologischen Ergebnisse vom 1. September 1899 bis 31. August 1900 sind in Tabellen gebracht für Ausfluß, Behälter und Reinigungsloch.

Durchschnittsergebnis für Ausfluß, Durchschnittsziffer der Bakterien per Kubikcentimeter:

Monat	1899	Durchschnitt
August		2 246
September		3 660
Oktober		4 230
November		2 261
Dezember		2 319
	1900	
Januar		830
Februar		3 451
März		20 480
April		13 263
Mai		3 077
Juni		2 359
Juli		2 270
August		546
September		850

Durchschnittsziffer der Bakterien im Reinigungsloch und Behälter per Kubikcentimeter:

Monat.		Reinigungsloch	Behälter
August	1899	2 392 600	1 358 300
September	"	8 815 000	3 245 000
Oktober	"	6 064 800	4 941 000
November	"	4 537 333	3 041 000
Dezember	"	816 333	848 000
Januar	1900	848 000	726 000
Februar	"	345 533	233 810
März	"	132 125	112 500
April	"	2 121 000	1 302 800
Mai	"	1 021 000	783 300
Juni	"	1 318 100	1 391 300
Juli	"	3 908 700	4 578 333
August	"	403 118	215 700
September	"	1 181 533	383 733

Auf das Studium der Arten wurde nicht sehr viel Mühe verwandt, doch wurden die folgenden gefunden:

Bacillus cloacae, Bacillus coli-communis, Bacillus mutabilis und Bacillus prodigiosus.

Die Anzahl der Bakterien im Ausfluß wurde täglich bestimmt, die im Reinigungsloch und Behälter einmal wöchentlich.

Es wurden Temperatur-Aufzeichnungen gemacht. Der Ausfluß erwies sich als sehr wirksam zur Beseitigung der Bakterien.

Was die Anwesenheit von Gas erzeugenden Organismen betrifft, so wurden am 12. Juli 25 gefunden; da $^1/_{10}$ eines ccm Wassers verwendet wurde, kamen 250 Gaserzeuger auf den ccm.

Die Zahl der Bakterien, die in einer Parallelkultur gezählt wurden, betrug 2400. Also waren annähernd 10 Proz. der Bakterien Gaserzeuger. Eine ähnliche Kultur aus dem Behälter am

1) Marston, A., Pammel, L. H., and Weems, J. B., Iowa State College sewage system. Contr. Iowa State College 1.

selben Tage zeigte 113 Gaserzeuger oder ungefähr $33^{1}/_{3}$ Proz. Das Reinigungsloch hatte am selben Tage 43 Proz. Gaserzeuger.

Der Prozentsatz von Gaserzeugern ist im Reinigungsloch am höchsten und im Ausfluß am niedrigsten, während die Zahl im Behälter dazwischen lag, welches beweist, daß die Gaserzeuger zerstört werden, während sie Behälter und Filter passieren.

L. H. Pammel (Iowa).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Meissner, Richard, Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung und Reinzüchtung der häufigsten im Most und Wein vorkommenden Pilze. 96 pp. Mit 61 Fig. Stuttgart 1901.

Mit der vorliegenden Arbeit beabsichtigt Verf., den Anfänger in den Gebrauch des Mikroskops und in die mikroskopische Untersuchung der hauptsächlichsten im Most und Wein vorkommenden Pilze einzuführen. Das Buch enthält einen Teil der praktischen Kursusübungen, welche in der Geisenheimer pflanzenphysiologischen Versuchsstation unter Leitung des Professor Dr. Wortmann über Weingärung, Hefe und Reinzucht etc. abgehalten werden. Die Darstellung ist deshalb sehr ausführlich; die notwendigen Handgriffe und Vorsichtsmaßregeln werden genau beschrieben.

Das Buch umfaßt folgende Pensa: 1) Das Mikroskop. Bau der Kartoffel- und Weizenstärke. 2) Gestalten der Hefe. Hefe- und Stärkegemenge. Aussaat von Hefe in Most. 3) Lebensstadien der Hefe. Sporen der Hefe. 4) Verschiedene Rassen der Hefe. Gelüftete Hefe. 5) Apiculatus-Hefe. 6) Kahmhefen. 7) Schleimhefen. 8) Dematium pullulans. 9) Mucor, Penicillium, Herstellung von Dauerpräparaten, Darstellung von Mostgelatine. 10) Aspergillus, Botrytis, Racodium. 11) Bakterien, Trebuntersuchungen. 12) Die Reinzucht der untersuchten Organismen.

Von den 61 Figuren hat Verf. die allermeisten selbst gezeichnet.

Die Darstellung ist überall ausgezeichnet klar und die langjährige Thätigkeit des Verf.'s in der Station in Geisenheim giebt Sicherheit dafür, daß die beschriebenen Methoden bewährt sind, ebenso wie ja auch sein Name für bedeutsame Arbeiten auf dem genannten Gebiete bürgt. Das Buch ist deshalb bestens zu empfehlen. In erster Linie wird es natürlicherweise zum Nutzen für diejenigen sein, die in den Weingärungsstationen arbeiten, aber auch für diejenigen Gärungsphysiologen, welche sich für technische Fragen interessieren, wird es eine vorzügliche Hilfe bei ihren Studien sein.

Klöcker (Kopenhagen).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Wehmer, Ueber Hemmungs- und Giftwert einiger Substanzen für Hefen. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XXIV. No. 14—16.)

Verf. erwähnt zunächst die bekannte Thatsache, daß die schädliche Dosis irgend einer Substanz weder für verschiedene Organismen gleich, noch für denselben Organismus unter allen Umständen dieselbe ist, daß vielmehr die obwaltenden speziellen Verhältnisse eine ausschlaggebende Rolle spielen. Er betont daher, daß die nackte Zahlenangabe für die giftige Konzentration eines Stoffes ohne Bezugnahme auf die besonderen Bedingungen dementsprechend nur von geringem Werte ist.

Nachdem Verf. eine Anzahl Beispiele aus der Litteratur für diese Variabilität der die Organismen schädigenden Wirkung angeführt hat, betont er, daß diese unschwer verständliche Erscheinung darauf zurückzuführen sei, daß die Resistenz eines Organismus von seinem Wohlbefinden abhänge, und zwar richte sich die zu ihrer Schädigung erforderliche Dosis eines „Giftes" nach den allgemeinen Ernährungs- und Lebensverhältnissen der Organismen.

Wenn man bislang nur in der Litteratur über pathogene Bakterien diese Variabilität genauer erörtert finde, so werde die Sache auch nicht anders bei Hefen liegen. Auf diese geht Verf. unter Zugrundelegung einiger Angaben der Litteratur und eigener Feststellungen in seinen weiteren Ausführungen ein.

Verf. beschreibt zunächst den schädigenden Einfluß irgend einer Substanz in mittlerer Dosis, der sich hier successive äußert, indem die anfangs geringfügige Störung der Lebensthätigkeit sich schließlich steigert zu einer vollständigen Hemmung (Unterdrückung) derselben, bis nach längerer oder kürzerer Zeit die Abtötung erfolgt. Bei stärkeren Giften treten diese Phasen in rascher Aufeinanderfolge ein. Wie Verf. angiebt, werden Wachstum (Vermehrung, Sprossung) und Stoffwechsel (Chemismus, Gärwirkung) der Hefe ungleich beeinflußt. Im allgemeinen werde der Effekt bestimmt von der Art und Konzentration des „Giftes", der spezifischen Natur des Organismus, der Summe der Lebensverhältnisse (Temperatur, Nahrung nach Art und Konzentration, chemische Reaktion des Mediums) und der Dauer der Einwirkung; der schädliche Einfluß einer Giftdosis ist bis zu gewissem Grade von den zwei letztgenannten Faktoren abhängig, sie selbst allerdings für die verschiedenen Stoffe wenigstens eine annähernd bestimmte.

Bei der alkoholischen Gärung kommt noch hinzu, daß der ermittelte Hemmungswert von der ausgesäten Hefemenge (Verhältnis zum Flüssigkeitsvolumen) abhängt.

Verf. weist auf die selbstverständliche Thatsache hin, daß bei optimaler Wachstumstemperatur und günstigster Substratzusammensetzung (Maische und Würze) der hemmende Wert irgend eines nachteiligen Stoffes immer merklich geringer wird.

Auch die Empfindlichkeit der einzelnen Rassen und Arten ist verschieden und den einzelnen Giften gegenüber ungleich; Verf. glaubt aber, soweit es sich um technische Hefen handelt, den Unterschieden keine so große Bedeutung beilegen zu sollen, als daß sie für eine annähernde Ermittelung des Hemmungs- und Giftwertes ernstlich ins Gewicht fielen. Da die Angaben über den gärungshemmenden Wert, namentlich organischer Säuren, in der Litteratur

stark voneinander abweichen, so konstatiert Verf., daß dies hauptsächlich auf die Verschiedenheiten der Versuchsanordnung zurückzuführen sei. Giftzahlen, abgelöst von der Versuchsanordnung, seien, so folgert er, unvergleichbar und für eine vergleichende Betrachtung des aseptischen und antiseptischen Wertes von Substanzen seien nur aus ganz überein angeordneten Versuchen gewonnene Resultate verwertbar.

Verf. geht nun zur Besprechung des Hemmungs- und Giftwertes einer Anzahl von Substanzen über: Milchsäure bewirkt Verzögerung von Sprossung und Gärung im allgemeinen erst oberhalb 1 Proz., Maischen und Würzen können selbst bei 1—2 Proz. Zusatz noch spontan in Gärung übergehen, 7—8 Proz. sind unter Umständen aber schon merklich störend. Verf. weist dann nach, daß die Litteraturangaben auseinandergehen, und er führt dieser Thatsache gegenüber an, daß — ohne Leugnung der Rassendifferenzen — diese erheblichen Unterschiede der Versuchsergebnisse der einzelnen Forscher doch vorzugsweise auf den besonderen Bedingungen, unter denen die Versuche ausgeführt wurden, beruhen. So kann sich die gleiche Brauereihefe sehr verschieden gegen Milchsäure verhalten: in der Hefenmaische mit 0,5 Proz. Milchsäure arbeitete die Hefe vorzüglich, in die Hauptmaische übertragen, fiel die Gärung stark ab und kam auch nicht zu Ende. Es zieht daher Verf. mit Recht den Schluß, daß die Empfindlichkeit der Hefe von sonstigen Verhältnissen abhängt.

Die Bakterien sind durchweg empfindlicher gegen diese Säure, selbst für die widerstandsfähigsten liegt, auch unter günstigen Verhältnissen, der Hemmungswert schon um 100 und darüber, ist aber meist um das Vielfache größer. Wie außerordentlich abhängig der hemmende Wert der Milchsäure für Spaltpilze von den besonderen Verhältnissen sein kann, weist Verf. an Zahlen der älteren Litteratur nach.

Die in derselben für Essigsäure angegebenen Hemmungswerte (Alkoholgärung) bewegen sich zwischen 40 und 160, was nach Verf.'s Ansicht auch hier wohl nur kleinenteils auf Rassenunterschiede, namentlich aber auf die abweichenden Versuchsbedingungen zurückzuführen ist. Bakterien und andere Pilze sind mit Ausnahme der Essigbakterien ungefähr gleich empfindlich gegen Essigsäure.

Auch bei der Buttersäure gehen die Angaben sehr auseinander, und es wird dies wiederum auf ganz verschiedene Versuchsbedingungen zurückzuführen sein. Als Hemmungswert setzt Verf. bei Gärung 70—140. Er berichtet dann über eigene Versuche, wonach $^1/_2$ Proz. der Säure (in Zuckerlösung) binnen 50 Tagen zur Abtötung aller Hefezellen ausreicht.

Die gewöhnlichen Maischebakterien sind durchschnittlich weniger empfindlich als die Hefen, für sie liegt in Brennereimaische der Hemmungswert (15° C) bei ca. 70, und Gaben bis 1 Proz. Buttersäure lassen allmählich noch ergiebiges Spaltpilzwachstum aufkommen, das allerdings in minder günstigen Flüssigkeiten durch weniger als die Hälfte sistiert wird.

Wesentlich nachteiliger scheint Oxalsäure zu wirken, schon bei 0,5 und selbst 0,1 Proz. ist die Störung der Gärung erheblich. Aehnlich wirkt Ameisensäure.

Von Salicylsäure und Benzoësäure heben 0,1 Proz. im allgemeinen Sprossung der Hefen auf, das Doppelte oder etwas mehr auch Gärung, selbst bei Vorhandensein von mehr Hefe. Noch größer in der Regel ist der Hemmungswert dieser Säuren für Bakterien.

Der nachteilige Einfluß der arsenigen Säure (als Alkalisalze) bezieht sich zunächst nur auf Wachstum und Vermehrung; anders liegt es mit der Gärwirkung, deren Zustandekommen zunächst nur von der angewendeten Hefemenge abhängt, also sogar bei 1—2 Proz. Arsenit eine lebhafte sein kann und selbst durch 10 Proz. Arsenit noch nicht ganz unterdrückt wird.

Verf. giebt dann an, wieviel Alkohol aus 100 ccm derselben Würze mit verschiedenen Hefemengen bei wechselndem Arsenitzusatz erhalten wurden. Die mitgeteilten Zahlen illustrieren genügend die Abhängigkeit des Hemmungswertes von der Hefeaussaat.

Von Formaldehyd heben schon Spuren sowohl Wachstum wie Gärung auf, und nur bei verhältnismäßig viel Hefe kann noch in $^1/_2$-proz. Lösung Gärwirkung kurze Zeit eintreten.

Nachdem Verf. noch den Hemmungswert von 4 organischen Säuren und der verschiedenen Alkohole besprochen hat, macht er auch Angaben aus der Litteratur über anorganische Säuren (schwetlige Säure, Borsäure, Schwefelsäure, Salzsäure und Phosphorsäure), sowie über einige Salze (kieselfluorwasserstoffsaure Salze, kieselsaures Natrium, Fluorammon).

Am Schlusse seiner Ausführungen giebt er zwar zu, daß der eigentliche Zweck derselben, nämlich zu einer einwandfreien vergleichenden Zusammenstellung der Hemmungs- und Tötungswerte einer Reihe von Stoffen zu gelangen, nur recht unvollkommen erreicht werden konnte; denn der Hemmungswert, zumal für die Gärung, variiert stark nach den Bedingungen, die gewöhnlich bei allen Untersuchern verschiedene waren, wozu auch noch die Art- und Rasseverschiedenheiten kommen. Wenn daher der Vergleich der vom Verf. angegebenen Zahlen auch nur „bescheidenen Wert“ beanspruchen könne, so läßt sich seiner Meinung nach für eine Reihe unter gleichen Umständen geprüfter Substanzen das Giftverhältnis gegenüber Hefen einigermaßen feststellen, und dementsprechend stellt Verf. für mittlere Verhältnisse eine Reihe solcher Stoffe mit ihren Hemmungs- und Tötungswerten mit aller Reserve auf.

Daran schließt sich für einige Substanzen eine Zusammenstellung der Schwankungen in den Litteraturangaben über den gärungshemmenden Wert (Hefen), durch Nebeneinanderstellung der Hemmungswerte für Gärung erläutert er zahlenmäßig den Einfluß der Gärflüssigkeit und Hefemenge.

Er gruppiert schließlich die einzelnen Substanzen nach Hemmungswerten für alkoholische Gärung bei 1—5 Proz. Hefe in guter

Nährflüssigkeit (15—20° C), führt den Hemmungswert einiger Stoffe für pathogene Bakterien und die Tötungswerte einiger Substanzen für sporenfreie Tuberkelbacillen nach Yersin an.

Bruhne (Halle a. S.).

Corrigendum

zur Arbeit von M. W. Beijerinck und A. van Delden, Ueber die Assimilation des freien Stickstoffs durch Bakterien.

Seite 19 Zeile 22 von oben: statt Fehling'sche lies Nessler'sche.

Seite 21 Zeile 17 von oben: statt J. Behrens lies H. Behrens.

Seite 22 Zeile 3 von oben am Kopf der Tabelle in der linken Spalte: statt Glukose lies Mannit.

Seite 33 Zeile 7 von oben am Kopf der Tabelle in der rechten Spalte: statt Mannit lies Glukose.

Seite 41 Zeile 4 und 5 von unten in Kolonne 1 $CaMalKNO^3$
statt: NH^3 und lies kein NH^3
KNO^2 „ nur KNO^2.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, umfassend Bakterien, Pilze und Protozoën. Unter Mitwirkung von Fachgenossen bearb. u. hrsg. von P. v. Baumgarten u. F. Tangl. 16. Jahrg. 1900. 1. Abt. 400 p. gr. 8°. Leipzig (S. Hirzel) 1902. 10 M.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

de M. Gage, St. and **Phelps, E. B.**, Studies of media for the quantitative estimation of bacteria in water and sewage. 8 p. gr. 8°. (Repr. from the Proceed. of the 29. ann. meet. of the Amer. publ. health assoc. 1901.) Columbus 1902.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Rabenhorst's, L., Kryptogamen-Flora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz. 2. Aufl. Bd. I. 7. Abt. Pilze. 82. Lfg. Fungi imperfecti. Bearb. v. A. Allescher. p. 449—512 m. Abbildgn. gr. 8°. Leipzig (Eduard Kummer) 1902. 2,40 M.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Fischer, F., Das Wasser, seine Verwendung, Reinigung und Beurteilung, mit besonderer Berücksichtigung der gewerblichen Abwässer und der Flußverunreinigung. 3. umgearb. Aufl. VIII, 482 p. m. Abbildgn. gr. 8°. Berlin (Julius Springer) 1902. 12 M.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Neumann, R. O., Ueber den Einfluß des Borax auf den Stoffwechsel des Menschen. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XIX. 1902. Heft 1. p. 89—96.)

Ohlmacher, A. P., Upon an extensive outbreak of food intoxication and infection of unique origin. (Journ. of med. research. May. 1902. p. 411—420.)

Rost, E., Ueber die Wirkungen der Borsäure und des Borax auf den tierischen und menschlichen Körper, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Verwendung zum Konservieren von Nahrungsmitteln. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XIX. 1902. Heft 1. p. 1—70.)

Rubner, Ueber die Wirkung der Borsäure auf den Stoffwechsel des Menschen. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XIX. 1902. Heft 1. p. 70—88.)

Saussailow, M., Ueber die Desinfektion der Briefe und der Bücher. (Wratschebn. gas. 1901. No. 34.) [Russisch.]

Sonntag, G., Ueber die quantitative Untersuchung des Ablaufs der Borsäureausscheidung aus dem menschlichen Körper. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XIX. 1902. Heft 1. p. 110—125.)

Fleisch.

Fischoeder, F., Leitfaden der praktischen Fleischbeschau einschließlich der Trichinenschau. 4. neubearb. Aufl. XIV, 251 p. m. Abbildgn. 8°. Berlin (Richard Schoetz) 1902. 5 M.

Messner, H., Ueber die Untersuchung des eingeführten Rauchfleisches. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1901/2. Heft 8. p. 232—234.)

Milch, Molkerei.

Miller, T. C., Regulations to secure a clean and safe milk supply. (Ohio sanit. bullet. Vol. VI. 1902. No. 2. p. 116—142.)

Raquet, H., La pasteurisation de sous-produits de la laiterie et de la crème. [Rapport.] 12 p. 8°. Ciney 1902. Impr. Latourg-Beugnies.)

Weitzel, A., Ueber die Labgerinnung der Kuhmilch unter dem Einfluß von Borpräparaten und anderen chemischen Stoffen. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XIX. 1902. Heft 1. p. 126—166.)

Bier, Brauerei.

Lindner, P., Kellerlüftung und Infektion. (Wochschr. f. Brauerei. 1902. No. 20. p. 277—279.)

— —, Die Infektionsgefahr durch hölzerne Spunde. (Wochschr. f. Brauerei. 1902. No. 21. p. 289—290.)

Schönfeld, F., Die Herstellung obergäriger Biere. VIII, 160 p. m. 17 Abbildgn. gr. 8°. Berlin (Parey) 1902. 4,50 M.

Wein, Weinbereitung.

v. Ritter, H., Ueber den Kahm. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1902. No. 4. p. 57—61.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Buxton, B. H., Bacterial purification of sewage. (Philad. med. Journ. 1902. No. 14. p. 621—626.)

Flynn, B. H., The septic treatment of sewage. (Ohio sanit. bullet. Vol. VI. 1902. No. 2. p. 72—78.)

Langenbeck, K., The character and value of aseptic flooring materials. Ohio sanit. bullet. Vol. VI. 1902. No. 2. p. 54—63.)

Müller, A., Die Reinigung fäulnisfähiger Abwässer und die sekundäre Verpestung. [Aus: „Gesundheit".] 7 p. gr. 8°. Leipzig (F. Leineweber) 1902. 0,70 M.

Rippert, P., Ueber ein neues Verfahren zur Konservierung des Stalldüngers und der Jauche. (Fühlings landwirtschaftl. Ztg. 1902. Heft 7—9. p. 248—255, 278—285, 334—340.)

Schwappach, Die Reinigung der städtischen Abwässer, mit besonderer Berücksichtigung der Verhältnisse von Eberswalde. (Gesundheit. 1902. No. 9. p. 197—204.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Burrage, S., Description of certain bacteria obtained from nodules of various leguminous plants. (Proceed. of the Indiana acad. of scienc. 1900. 1901. p. 157—161.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten.

Danger, L., Klappertopf und dessen Vertilgung. (Dtsche Landwirtschafts-Ztg. 1902. No. 25. p. 149—150.)

Eckhardt, A., Bekämpfung der Spargelfliege. (Möller's dtsche Gärtner-Ztg. 1902. No. 22. p. 264.)

Francé, R., Der gegenwärtige Stand der Getreiderostfrage. (Umschau. 1901. p. 963—968.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle in Jena.

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. **Jena**, den 21. August 1902. **No. 6/7.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Atmung der niederen Pilze.

Von **N. A. Maximow.**

[Aus dem botanischen Laboratorium der St. Petersburger Universität.]

Mit 2 Figuren und 18 Diagrammen.

I.

Obschon die Frage über den Einfluß des Lichtes auf die Atmung der niederen Pilze bereits über eine recht ansehnliche

Litteratur verfügt, ist sie bislang dennoch nicht genügend erläutert, zumal die verschiedenen Autoren, welche sich mit der Lösung dieser Frage bemühten, zu Schlußfolgerungen gelangten, welche im Widerspruch zu einander stehen. Ohne bei den ältesten, obige Frage behandelnden Arbeiten zu verweilen (eine Zusammenstellung dessen, was über dies Thema bereits geleistet ist, finden wir in den weiter unten erwähnten Studien Purijewitsch's und Elfving's) will ich in Kürze die Resultate der einschlägigen, in verhältnismäßig jüngster Zeit erschienenen Erforschungen schildern.

Bonnier und Mangin[1]) haben einen beträchtlichen Teil ihrer klassischen Arbeit gerade der Frage über die Wirkung des Lichtes auf die Atmung gewidmet. Ueber die Details dieser Arbeit erlaube ich mir an dieser Stelle hinwegzugehen, weil dieselben in den Darstellungen neuerer Autoren bereits einer genauen Besprechung gewürdigt wurden: Das Hauptergebnis derselben bildet der Grundsatz, daß das zerstreute Licht eine depressive Wirkung auf den Atmungsprozeß der Pilze ausübt, wobei die Abschwächung der Atmung zwischen 5 und 30 Proz. schwankt. Die Autoren experimentierten fast ausschließlich mit Fruchtkörpern höherer Pilze; von den niederen Pilzen prüften sie einzig und allein den Phycomyces nitens und führten mit demselben nur zwei Versuche aus (No. 47 und 48). Leider aber sind diese beiden Versuche nicht überzeugend genug, da in ihnen nur je zwei Diagnosen der Atmung, die eine im Licht, die andere in der Dunkelheit, gestellt wurden.

Diese Versuche gestalten sich, wie folgt:

No. 47. Dauer des Versuches je 2 Stunden, 30 Minuten. Im Lichte wurden 4,5 Proz. CO_2, im Dunkeln 6,1 Proz. ausgeschieden.

No. 48. Dauer des Versuches je 2 Stunden. Im Lichte wurden 2,75 Proz., im Dunkeln 3,14 Proz. CO_2 produziert.

Bei diesen Versuchen möchte es auf den ersten Hinblick scheinen, daß die Atmung im Dunkeln an Stärke bedeutend zunimmt, doch kann diese Erscheinung mit gleichem Erfolge auf das Wachsen des Pilzes zurückgeführt werden, zumal sich der Phycomyces bekanntlich äußerst rasch entwickelt. Auf diese Weise bleibt die Schlußfolgerung von Bonnier und Mangin bezüglich des hemmenden Einflusses des Lichtes auf die Atmung bloß für die höheren Pilze in Kraft.

Im Jahre 1890 wiederholte Purijewitsch[2]) die Versuche Bonnier's und Mangin's, nachdem er ihre Beobachtungsmethoden vervollkommnet hatte, und gelangte zu denselben Resultaten. Er experimentierte aber ausschließlich mit höheren Pilzen, die niederen hingegen wurden von ihm gar nicht in Betracht gezogen.

Die erste Arbeit, in welcher die Einwirkung des Lichtes auf die Atmung speciell niederer Pilze einem eingehenden Studium

1) Recherches sur la respiration et transpiration des Champignons. (Annales d. sc. nat. Série VI. Botanique. (T. XVII. 1884.)

2) Schriften der Kiewschen Naturforschergesellschaft. Bd. XI. Lief. 1. [Russisch.]

unterzogen wird, tritt uns in der Dissertation Elfving's[1]) entgegen. Diese Arbeit bietet eine eingehende und allseitige Erforschung des Einflusses des Lichtes auf den gesamten Organismus des Pilzes und verweilt ziemlich lange bei dem Atmungsprozesse.

Das Studium basierte auf zweierlei Methoden, einer direkten und einer indirekten. Bei der Anwendung des direkten Verfahrens wurden alte, vollständig ausgewachsene (meistens 1—2 Wochen alte) Kulturen des Schimmelpilzes in Erlenmeyer-Kolben in ein Gefäß mit Wasser von beständiger Temperatur untergebracht und alsdann die Atmung nach Pettenkofer bestimmt. Bei diesen Versuchen bediente sich Elfving nicht des diffusen Lichtes (wie die früheren Erforscher), sondern des unmittelbaren Sonnenlichtes, und er war daher genötigt, einen ziemlich komplizierten Apparat zu konstruieren, zwecks Erhaltung konstanter Temperatur während des Experimentes. Leider ist ihm dieses nur zum Teil gelungen und die Temperaturschwankungen erreichten beim Wechsel des Lichtes und der Dunkelheit 1,2° C, wobei nach seinen eigenen Kontrollversuchen die Differenz in der Kohlensäureproduktion 12 Proz. erreichen konnte.

Die Feststellung der produzierten Kohlensäuremenge, d. h. das Wechseln der Pettenkofer'schen Röhren, wurde gewöhnlich nach Verlauf einer Stunde besorgt, das ganze Experiment hingegen dauerte 4—5 Stunden. Die Atmung in der Dunkelheit wurde sowohl vor als nach der Beleuchtung festgestellt. Auf Grund von 34 Versuchen, welche mit verschiedenen Arten der Schimmelpilze (Briaraea sp., Aspergillus niger, Asp. flavescens, Mucor racemosus, Penicillium glaucum) ausgeführt wurden, gelangte der Autor zu dem Schlusse, daß das Licht keinen merklichen Einfluß auf die Atmung vollkommen ausgewachsener alter Kulturen der Schimmelpilze ausübe, ohne Rücksicht auf das Nährsubstrat, auf welchem sich diese Kulturen während des Versuches befanden.

Das Studium der Einwirkung des Lichtes auf die Atmung junger, im Wachstum befindlicher Pilze, nach derselben Methode hielt Elfving nicht für möglich, weil bei letzteren der Atmungsprozeß nicht als stationär, wie bei alten Kulturen, sondern als allmählich zunehmend sich erweist, was zu falschen Schlüssen führen könnte, wie wir es beispielsweise bei Bonnier und Mangin gesehen haben. Aus diesem Grunde wendet sich der Autor hier zur indirekten Methode resp. zum Verfahren der parallelen Kulturen, welches in Folgendem bestand: Ein nach Möglichkeit gleiches Quantum Sporen des Pilzes wird in zwei identische Erlenmeyer'sche Kolben ausgesät, worauf der eine von ihnen mit Stanniol umwickelt wurde und hernach beide dem diffusen Lichte ausgesetzt wurden. Die Kohlensäure wurde bei Beginn und zum Schluß des Experimentes nach dem Verfahren von Bonnier und Mangin festgestellt. Jeder Versuch dauerte 2—4 Tage. Auf Grund von 14 Versuchen ergab es sich, daß in den dem Lichte

1) Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze. Helsingfors 1890.

ausgesetzten Kolben die Menge der produzierten CO_2 bedeutend geringer war, nicht selten $1^1/_2$ bis 2mal, als in den verdunkelten. Hieraus zieht Elfving den Schluß, daß das Licht hemmend auf die Atmung einwirkt, welche mit der Synthese organischer Stoffe im Pilze in Zusammenhang steht.

Diese Schlußfolgerung erscheint jedoch als nicht genügend begründet, denn die Entwickelung der Pilze in den mit Stanniol umhüllten und den dem Lichte ausgesetzten Kolben ging durchaus nicht auf gleiche Weise vor sich und sind wir nicht berechtigt, auf Grund der absoluten Zahlen der produzierten CO_2 ein Urteil zu fällen über die Intensität der Atmung. Wenn wir aber versuchen, uns eine Vorstellung über diese Intensität durch Teilung des Quantums ausgeschiedener CO_2 durch das Trockengewicht[1]) zu machen und diese Intensität an parallelen Kulturen im Licht (L) und im Dunkeln (D) vergleichen wollten, so erhalten wir nachstehendes Verhältnis (in abgerundeten Zahlen):

$$\frac{L}{D} = \frac{5}{4}; \frac{1}{1}; \frac{3}{2}; \frac{9}{10}; \frac{1}{1}; \frac{11}{9}; \frac{1}{1}; \frac{1}{1}; \frac{1}{1}; \frac{10}{11}; \frac{1}{1}; \frac{3}{2}; \frac{1}{1};$$

durchschnittlich gestaltet sich das Verhältnis $\frac{L}{D} = \frac{1{,}06}{1}$, d. h. die Intensität der Atmung (und gerade die Intensität ist uns von Interesse) in den beleuchteten Kulturen ist von gleicher Höhe wie in den verdunkelten Kulturen, trotzdem das Licht auf die Synthese in den meisten Versuchen stark hemmend wirkte. Jedenfalls geben uns diese Experimente noch nicht das Recht, auf eine verschiedene Wirkung des Lichtes auf die Atmung, gleichviel, ob dieselbe der Synthese parallel läuft oder nicht, zu schließen. Dafür sind sie aber ein klarer Hinweis darauf, daß bei Atmungsversuchen stets jene Veränderungen im Atmungsprozeß, welche von der Synthese hervorgerufen werden, im Auge behalten und mit in Rechnung gezogen werden müssen. Demnach bleibt nur die erste Versuchsreihe Elfving's in Kraft, aus welcher hervorgeht, daß direktes Sonnenlicht auf die Atmung alter Kulturen der Schimmelpilze keinen merklichen Einfluß ausübt.

Im Jahre 1894 beschäftigte sich Shorawsky[2]) mit derselben Frage. Als Untersuchungsobjekte dienten ihm sowohl höhere Pilze (Agaricus campestris) als auch Schimmelpilze (Phycomyces nitens und Mucor sp.) Das benutzte Versuchsverfahren war im wesentlichen dasselbe, welches bei den Versuchen von Purijewitsch zur Anwendung gelangte. Bei den Versuchen wurde diffuses Licht angewandt; der Röhrenwechsel geschah alle 20—60 Minuten. Hinsichtlich des Agaricus bestätigte Shorawsky die Versuchsresultate der früheren Autoren; die niederen Pilze hingegen legten ein ganz anderes Verhalten zum Lichte an den Tag. Auf Phycomyces übte das Licht gar keinen Einfluß aus (in 6 Versuchen verhielt sich die in

1) Obschon allerdings die Berechnung auf das Trockengewicht nicht als zuverlässiges Kriterium anerkannt werden kann.

2) Travaux de la société des naturalistes de Varsovie. 1894—1895. (Comptes rendus des sections: 1) de physique et de chimie et 2) biologique. [Russisch.]

Licht erzeugte CO_2 zu der in Dunkelheit produzierten CO^2-Menge durchschnittlich wie 1,03 : 1); bei Mucor sp. konnte ein deutlicher stimulierender Einfluß des Lichtes beobachtet werden (auf Grund von 11 Versuchen gestaltete sich dasselbe Verhältnis wie 1,17 : 1). Leider finden wir in der Abhandlung Shorawsky's keine näheren Angaben über das Alter seiner Versuchsobjekte und die Bedingungen, unter denen sich dieselben während des Versuches befanden. Ueberhaupt ist diese Arbeit so knapp verfaßt (sie umfaßt im ganzen 2 Seiten Text und 4 Seiten Tabellen), daß von einer Ausführung der Details gar nicht die Rede sein kann.

Endlich hat in neuerer Zeit Kolkwitz [1]) die Frage über den Einfluß des Lichtes auf die Atmung zum Gegenstande seines Studiums gemacht, und zwar ausschließlich in Bezug auf niedere Pilze. Das Verfahren, welches Kolkwitz bei seinen Versuchen benutzte, zeichnet sich durch hohe Vollkommenheit aus. Nach seinen eigenen Worten war ihm bei der Anordnung seines Versuchsapparates „kein Hilfsmittel, welches Berlin bieten konnte, verschlossen". Dem Versuchsverfahren liegt das von Pettenkofer angegebene Prinzip zu Grunde, welches auch von Purijewitsch und Elfving angewendet worden ist, doch wird die Luft im konstanten Strome nicht durch das Kulturgefäß gesogen, sondern aus einer mit gepreßter Luft gefüllten Bombe durch denselben gestoßen. Bei diesem Verfahren geht, wie aus den Versuchen des Autors hervorgeht, die Aufnahme der von den Objekten produzierten Kohlensäure rascher und vollständiger von statten, was bei den kurzdauernden Beobachtungen (10—20 Minuten), welche Autor ausführte, von besonderem Wert ist. Besondere Aufmerksamkeit richtete der Autor bei den Versuchen auf die Erhaltung konstanter Temperatur. Zu diesem Zwecke ward das Kulturgefäß in einen Kasten mit Wasser untergebracht, welches mit einem Rührwerk, sowie einem äußerst empfindlichen elektrischen Thermoregulator versehen war; die Erwärmung des Wassers geschah gleichfalls mittels eines elektrischen Stromes. Dank all diesen Vorrichtungen erstreckten sich die unvermeidlichen Temperaturschwankungen nicht über $^1/_{10}$ bis $^1/_{30}{}^0$ C hinaus.

Für die Schimmelpilze wurde ein flaches, ovales Glasgefäß gebraucht mit paralleler Ober- und Unterwand. Das Gefäß mit 300—400 ccm Rauminhalt wurde mit 30—50 ccm Nährlösung beschickt. Als Lichtquelle benutzte der Autor eine elektrische Bogenlampe, durch welche ein 45 Volt starker Strom bei 20 Ampère geleitet wurde. Bei den meisten Versuchen wurde das Licht durch parabolische Reflektoren verstärkt. Als Versuchsobjekte dienten folgende Organismen: Aspergillus niger, Mucor sp., Penicillium sp., Oidium lactis, Micrococcus prodigiosus und Proteus vulgaris.

Auf Grund seiner in technischer Hinsicht äußerst sorgfältigen Arbeit gelangte Kolkwitz zu dem Schlusse, daß das Licht auf die Atmung der niederen Pilze einen fördernden Einfluß ausübt, welcher anfangs circa 10 Proz. beträgt.

1) Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. Bd. XXXIII. 1899. Heft 1.

Es sei hier noch ein wichtiger Unterschied der Arbeit Kolkwitz' von den früheren Arbeiten hervorgehoben. Kolkwitz machte seine Beobachtungen nicht nach Verlauf von 1—2 Stunden, sondern alle 10—20 Minuten, wodurch es ihm möglich wurde, die gewonnenen Resultate in Form einer Kurve aufzuzeichnen. Wie wesentlich dieses ist, geht daraus hervor, daß die vorausgegangenen Erforscher Objekten mit nicht stationärer Atmung, zu denen gerade die niederen Pilze, namentlich in deren erstem Entwickelungsstadium gehören, sorgfältig aus dem Wege gingen. Sobald aber eine Reihe von Beobachtungen in kurzen Intervallen ausgeführt wird, kann der Charakter der krummen Linien noch vor Beginn des Versuches in der Dunkelheit verfolgt werden und über den Einfluß des Lichtes, auf Grund der eintretenden Veränderungen in der Richtung der betroffenen Kurve, in Gegenwart dieses Faktors, geurteilt werden. Leider benutzte Kolkwitz selbst lange nicht immer diesen seinem Verfahren eigenen Vorzug, und es kommen daher aus 16 Versuchen 6 also wenig überzeugend in Wegfall (No. 14, 15, 16, 17, 18, 19). Gegen Kolkwitz' Versuche wäre noch folgende wichtige Einwendung zu machen: Bei verhältnismäßig bedeutender Kulturfläche des Pilzes (circa 250 □ cm) verfügten die Kulturen über nur 30—50 ccm Nährlösung resp. eine Flüssigkeitsschicht von 1—2 mm; selbstverständlich war dieses geringe Quantum ziemlich bald verbraucht und es wiesen infolgedessen die Kurven ohne irgendwelche Aenderungen der übrigen Bedingungen Sprünge auf. Dieser Umstand beeinträchtigt stark die Evidenz der Resultate von Kolkwitz und gestattet es nicht, dieselben als endgiltige Lösung der streitigen Frage zu betrachten.

II.

Angesichts der so widerspruchsvollen Resultate, zu denen die genannten Erforscher gelangt sind, halte ich es für nicht überflüssig, in Nachstehendem meine Beobachtungen auf dem Gebiete der Frage über den Einfluß des Lichtes auf den Atmungsprozeß der Pilze, welche ich auf Prof. Dr. D. O. Iwanowsky's Anregung im botanischen Institut der St. Petersburger Universität ausgeführt habe, mitzuteilen. Hierbei beeile ich mich, vorauszuschicken, daß meine Arbeit lange nicht als vollendet betrachtet werden kann, daß vielmehr in derselben obige Frage nur berührt wird und noch viele Seiten derselben völlig unaufgeklärt bleiben. Dennoch halte ich es für nützlich, da ich aus unvorhergesehenen Gründen genötigt war, meine Arbeit zu unterbrechen, wenigstens die vorläufigen Resultate, zu denen ich auf Grund meiner Beobachtungen gelangte, mitzuteilen. Da wir in Bezug auf höhere Pilze über völlig übereinstimmende Daten der älteren Autoren Bonnier und Mangin, sowie Purijewitsch, welche durch die spätere Arbeit Shorawsky's bestätigt wurden, verfügen, wandte ich meine Aufmerksamkeit den niederen Pilzen zu, welche zudem in experimenteller Hinsicht große Bequemlichkeit bieten, worauf auch Kolkwitz hinweist. Als hauptsächliches Untersuchungsobjekt diente mir Aspergillus niger (zwei Versuche wurden mit Mucor

stolonifer ausgeführt), welcher in Raulinlösung kultiviert wurde. Als Apparat benutzte ich bei meinen Versuchen eine Modulation des Elfving'schen Versuchsverfahrens. Da es notwendig ist, die Temperatur während des ganzen Versuches konstant zu erhalten, bilden einen der Hauptteile des Apparates jene Vorrichtungen, durch welche die gewünschte Temperatur beständig erlangt wird und welche zusammengefaßt werden können unter der Bezeichnung thermostatischer Apparat. Letzterer hatte bei mir folgende Anordnung (Figur 1):

Der Kulturkolben *F* (näheres über den Kolben siehe unten) war in ein großes Gefäß mit Wasser *E* untergebracht, durch welch letzteres das Wasser langsam, mit konstanter Geschwindigkeit von circa 20 l in der Stunde, strömte, wobei es eine beständige Temperatur beibehielt. Letzteres wurde auf folgende Weise zu Wege gebracht: Das aus der Wasserleitung kommende Wasser gelangte zuerst in das Reservoir *A*, welches ziemlich hoch an der Wand angebracht war; dieses Reservoir hatte den Zweck, das hinauf-

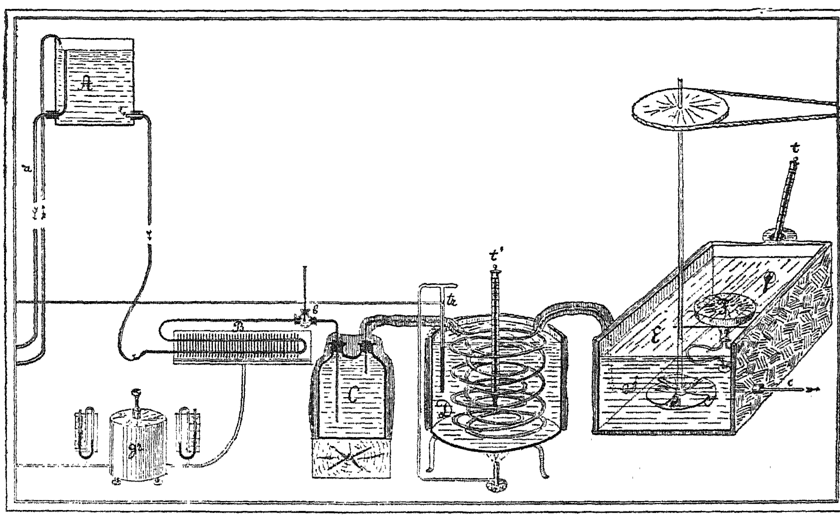


Fig. 1.

geleitete Wasser hernach von einer beständigen Höhe herabfallen und folglich mit konstanter Stromgeschwindigkeit durch den Apparat strömen zu lassen, da der Druck der Wasserleitung bedeutende Schwankungen aufweist; das überflüssige Wasser lief durch das Niveaurohr *a* hinaus. Das nach unten gelangende Wasser wurde mittels eines mit einem Gasdruckregulator (*gr*) versehenen Fletscher-Brenners *B* erwärmt. Das erwärmte Wasser verließ den Fletscher-Brenner mit einer der gewünschten nahen Temperatur, deren Schwankungen demnach 2—3° C erreichten. Der Fletscher-Brenner wurde kontrolliert mittels Einschaltung

eines kugelförmigen Glaskolbens, in welchem das untere Ende eines Thermometers angebracht wird; im Falle allzu großer Temperaturschwankungen wurde der Gaszufluß oder die Stromgeschwindigkeit des Wassers durch die Hand mittels Quetschhahns reguliert. Alsdann passierte das erwärmte Wasser eine große, etwa 2 l fassende, mit Filz umwickelte Wulff'sche Flasche *C*; in dieser Flasche konnten sämtliche, infolge der mit der Hand ausgeführten Regulierung entstehenden schroffen Schwankungen gemildert werden. Diese Vorrichtung ist ein wesentlicher Teil des Apparates; durch seine Abwesenheit läßt sich teilweise erklären, weshalb Elfving keine konstante Temperatur erlangen konnte. Aus der Flasche *C* strömte das Wasser durch eine spiralig gewundene, 10 m lange Bleiröhre von 5 mm Durchmesser durch einen eisernen emaillierten Kessel *D*, welcher 8 l Wasser enthielt. Dieser Kessel war mit dickem Filz umwickelt und wurde mit Hilfe eines gewöhnlichen, mit einem Reichertschen Thermoregulator *tr* versehenen Gasbrenners erwärmt; in dem Kessel befand sich ein empfindliches Thermometer (*t'*), an welchem $^1/_{20}{}^0$ C abgelesen werden konnten. Die Temperaturschwankungen in jenem Kessel beschränkten sich auf 0,5^0. Nach den Temperaturschwankungen im Kessel konnte ich im voraus über die Schwankungen urteilen, welche im Gefäß *E* vor sich gehen konnten, woselbst das Kulturgefäß eingesenkt war; durch Anzünden oder Auslöschen des Hilfsbrenners unter dem Kessel konnte ich weiterem Fortschreiten der Temperaturschwankungen vorbeugen. Aus dem Kessel *D* trat das Wasser durch eine in Filz eingehüllte Röhre in den Behälter *E*, welcher auch in Filz eingehüllt war, und floß von hier durch ein Niveaurohr *c* ab. Im letztgenannten Wasserbehälter befand sich das Kulturgefäß und ein empfindliches Thermometer *t*, an welchem sich 0,05^0 C genau ablesen ließen. Das Reservoir dieses Thermometers war nie dem Einflusse des direkten Sonnenlichtes ausgesetzt, sondern blieb stets verdeckt, da widrigenfalls das Quecksilber leicht über die Temperatur des umgebenden Elementes hinaus sich erwärmen könnte; letzteres passierte scheinbar bei den Versuchen Elfving's, wo das Thermometer direkt im Kulturgefäß untergebracht war und zweifellos falsche Temperaturangaben lieferte. Das Gefäß *E* war nicht bei allen Versuchen dasselbe. Für die ersten Versuche benutzte ich hierzu eine umgekehrte Glasglocke, welche circa 5 l faßte, und versenkte in derselben das Kulturgefäß ohne jegliche Vorrichtung zum Durcheinandermischen des Wassers; freilich wurde das Wasser teilweise durch den die Glocke pasierenden Wasserstrom selbst umgemischt, doch hatte ich Grund genug, zu befürchten, daß die Wasserschicht zwischen dem flachen Boden des eingesenkten Kulturgefäßes und der Wasseroberfläche (diese Schicht war $1^1/_2$—2 cm hoch) sich mehr erwärmte als die übrige Wassermasse. Um dem vorzubeugen, mischte ich das Wasser erst mit der Hand durcheinander, später aber, und zwar als ich zu den Versuchen mit Sonnenlicht überging, faßte ich den Entschluß, folgende Modulationen des Apparates auszuführen: 1) sollten in dem besagten Gefäß Rührschaufeln an-

gebracht werden, welche durch konstante und energische Bewegung das Wasser über dem Kulturgefäße am Stauen verhinderten; 2) sollte, um sich überzeugen zu können, daß Temperaturschwankungen, welche beim Wechsel von Dunkelheit und Licht dennoch stattfinden könnten, keinerlei Einfluß auf die Atmung der Pilze ausüben, eine Kontrollkultur neben dem eigentlichen Versuchsobjekte eingeführt werden, und zwar in demselben Gefäße, mit dem Unterschiede, daß der Kontrollkolben mit Stanniol umwickelt und unter einem Deckel plaziert würde (Fig. 2, *k*.) Der zu diesem Zwecke hergerichtete Zinkkasten faßte gegen 10 l Wasser (Fig. 2). Die Rührvorrichtung war in Form einer Dampferschraube hergestellt und zwischen den Objektkolben untergebracht; in Bewegung wurde die Schraube mittels einer Wasserturbine gesetzt. (Bei der Erörterung der Resultate werden die in der Glasglocke ausgeführten Versuche mit den Worten „ohne Rührvorrichtung" und die im Zinkkasten veranstalteten „mit Rührvorrichtung" bezeichnet sein).

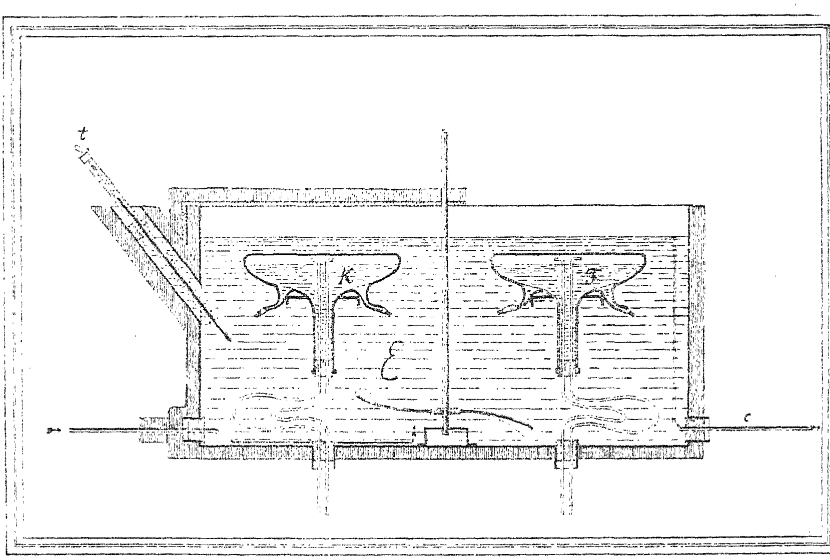


Fig. 2.

Dank allen beschriebenen Vorrichtungen bezifferten sich die Temperaturschwankungen im Gefäß, welches den Kulturkolben enthielt, ohne Rührschraube auf höchstens 0,2° C, mit Rührschraube hingegen auf höchstens 0,1° C, und gingen recht langsam vor sich. Dazu trug auch der Umstand bei, daß die Temperatur des Wassers (circa 30°) immer höher war als die der umgebenden Luft und daher beim Entfernen des Deckels einiges Abkühlen eintrat, welches den Zufluß der strahligen Wärme teilweise kompensierte. Uebrigens mußte, um übermäßige Erhöhung der Temperatur

zu vermeiden, die Gasflamme unter dem Kessel *D* hin und wieder ausgelöscht werden (bei einiger Gewöhnung konnte im voraus bestimmt werden, um wieviel die Temperatur im Kessel *D* herabgesetzt werden mußte, um den Einfluß der Strahlenwärme im Gefäß *E* auszugleichen); ausnahmsweise mußte kaltes oder heißes Wasser in das Gefäß *E* hinzugegossen werden. Auf diesem Wege wurde in meinen Versuchen der Einfluß des Temperaturwechsels völlig beseitigt, wofür auch die Kontrollversuche Zeugnis ablegten.

Zur Bestimmung der vom Pilze produzierten CO_2 benutzte ich Pettenkofer's Verfahren. Durch den Kulturkolben wurde ein konstanter Luftstrom gesogen, welcher, um von CO_2 befreit zu werden, erst durch 3 mit Natronkalk gefüllte Chlorcalciumtürme und durch ein Kontrollgefäß mit Barytlösung geleitet wurde. Bei den Versuchen „ohne Rührvorrichtung" gelangte in obige Türme Zimmerluft; bei den Versuchen „mit Rührvorrichtung" hingegen Luft direkt aus dem Freien. Die CO_2-freie Luft wurde vor dem Eintreten in das Kulturgefäß durch ein im Kessel *D* angebrachtes langes, bleiernes Schlangenrohr geleitet und gelangte von hier durch eine mit Watte umwickelte Röhre in das Gefäß *E* und erst nachdem sie hier die Temperatur des umgebenden Wassers angenommen hatte, in das Kulturgefäß; in den letzten Versuchen übrigens befand sich das Schlangenrohr direkt im Gefäß *E*. In den Fällen, wo Kontrollkulturen zur Anwendung gelangten, erhielten beide Kulturen aus einer gemeinsamen Röhre Luft. Der Luftstrom wurde mittels eines kleinen gläsernen Tropfenaspirators konstant erhalten, wozu das obenerwähnte Reservoir *A* Wasser lieferte. Die Gleichmäßigkeit eines auf diesem Wege erlangten Luftstromes ist, wie aus Elfving's Versuchen hervorgeht, durchaus genügend. Genaue Messungen der Wasserstromgeschwindigkeit habe ich nicht ausgeführt; durchschnittlich betrug dieselbe circa $4^1/_2$ l in der Stunde. Bei der gleichzeitigen Arbeit mit zwei Kulturen wurden natürlich zwei Aspiratoren benutzt. Die angewandten Pettenkofer'schen Absorptionsröhren enthielten 75 ccm titrierter Barytlösung ($Ba(OH)_2$); zur größeren Sicherheit der vollständigen Absorption der Kohlensäure wurde noch eine Drechsel-sche Kontrollflasche mit Barytlösung in die Leitung eingeschaltet. Die Röhren mit Barytlösung wurden gewöhnlich alle 30 Minuten, seltener alle 10—15 Minuten gewechselt. Die Füllung der Röhren wurde besorgt mit Hilfe einer am oberen und unteren Ende maskierten Pipette, welche mit einer großen, mehrere Liter titrierter Barytlösung enthaltenden Flasche verbunden war. Beim Wechsel der Röhren wurde die Barytlösung in schmalhalsige Glasgefäße abgegossen und zwecks Klärung (Niederschlag des kohlensauren Baryts) zur Seite gestellt. Vor der Füllung wurden sowohl die Absorptionsröhren als auch die Flaschen mit CO^2-freier Luft ventiliert. Zur Titrierung wurden stets 25 ccm Barytlösung angewandt, und zwar mit Hilfe einer mit zwei Abzeichen versehenen Pipette. Das Einsaugen der Lösung in die Pipette geschah mittels eines Aspirators, welcher aus einer großen Flasche hergerichtet und von der Pipette durch ein mit Natronkalk beschicktes Chlor-

calciumrohr getrennt war. Mit Hilfe all dieser Vorrichtungen wurde völlige Beseitigung der atmosphärischen Kohlensäure erzielt. Zur Neutralisation wurde Schwefelsäurelösung von solcher Konzentration angewandt, daß 1 ccm Lösung 1 mg CO_2 entsprach. Aus jeder Flasche gelangten anfangs je 2 Proben zur Untersuchung; nach wiederholten Versuchen begnügte ich mich mit einer Probe, wiederholte dieselbe aber stets bei allen zweifelhaften Fällen. Die angewandten Büretten waren an der Hinterwand mit einem blauen Papierstreifen beklebt, zwecks leichterer Ablesung von 0,05 ccm. Als Indikator diente Phenolphtalein.

Als Lichtquelle diente eine $^1/_2$ m von der Oberfläche des Pilzes entfernte elektrische Bogenlampe (15 Ampère). Das Licht fiel auf die Kultur unter einem Winkel von etwa 60°. Bei fast allen Versuchen wurden zur Verstärkung des Lichtes sphärische Glasreflektoren von circa $^1/_2$ m Durchmesser angewandt. Bei 3 Versuchen kam direktes Sonnenlicht zur Anwendung. Hierbei wurde das Gefäß, welches den Kulturkolben aufnahm, auf eine Plattform jenseits des Fensters aufgestellt, so daß das Licht nur eine etwa 1—2 ccm starke Wasserschicht und den gläsernen Boden des Kolbens zu passieren hatte. Als Kulturgefäß diente ein Roux-Kolben (Fig. 2), welcher umgekehrt befestigt wurde, wodurch eine durch den flachen Boden des Kolbens gleichmäßig beleuchtete Fläche von 25 ccm Durchmesser erlangt wurde. Die Luftschicht zwischen der Oberfläche des Pilzes und dem Boden des Kolbens war ungefähr $^1/_2$ ccm dick. Durch den Stöpsel des Kolbens waren zwei Glasröhren mit abgebogenen, in entgegengesetzter Richtung auslaufenden Enden eingesetzt. Durch diese Röhren geschah das Ein- und Ausströmen der Luft, und zwar mit einer Geschwindigkeit von annähernd 4—6 l pro Stunde (der Kulturkolben enthielt, nach Abrechnung des von der Nährlösung eingenommenen Raumes, circa 150 ccm Luft). Als Nährflüssigkeit wurden 150—175 ccm Raulin-Lösung angewandt; eine so beträchtliche Flüssigkeitsmenge mußte natürlich ziemlich viel Kohlensäure aufnehmen. Die aufgelöste Kohlensäure konnte aber auf die Resultate der Versuche nur von einigermaßen ausgleichendem Einfluß sein, denn bei raschem Steigen der Atmung wurde ein Teil der produzierten CO_2 aufgelöst (infolge des steigenden partiellen Druckes) und gelangte nicht in die Absorptionsröhren; beim Sinken des Atmungsprozesses konnte ein Teil der aufgelösten CO_2 umgekehrt aus der Lösung ausscheiden und hierdurch das Herabsetzen maskieren; in entgegengesetzter Richtung konnte die aufgelöste CO^2 keinerlei Fehler herbeiführen.

Andererseits üben die Nährbedingungen des Pilzes recht bedeutenden Einfluß auf die CO_2-Produktion und kann bei Anwendung geringer Nährsalzlösung, wie es bei den Versuchen von Kolkwitz der Fall ist, die Lösung während des Versuches in ihrer Zusammensetzung sehr bedeutende Veränderungen erfahren, was zu weit größeren Fehlern Anlaß geben dürfte.

Auf Grund der erläuterten Erwägungen habe ich es vorgezogen, größere Mengen Nährflüssigkeit zu verwenden, und war bemüht, durch beständiges Wechseln der Nährlösung die Er-

nährung des Pilzes während der ganzen Versuchsdauer konstant zu erhalten. Zu diesem Zwecke bediente ich mich nachstehender Vorrichtung: Die Seitenhälse des Kolbens wurden einige Stunden vor Beginn des Versuches verbunden — der eine mit einem großen mehrere Liter steriler Nährlösung enthaltendem Gefäß, der andere mit einer so placierten Niveauröhre, daß die Oberfläche der Nährlösung im Kolben stets auf einer Höhe verblieb. Diese Einrichtung beruhte auf dem Prinzip der kommunizierenden Gefäße, wobei das Ende des ableitenden Rohres ein wenig unter dem Niveau der Lösung im Kulturkolben angebracht wurde, weil der Druck im Innern des Kolbens etwas geringer als der atmosphärische war. Die Stromgeschwindigkeit der Lösung im Leitungsrohre wurde durch einen Quetschhahn reguliert und betrug etwa 50—80 ccm in der Stunde; bei solcher Geschwindigkeit konnten nur geringe Mengen aufgelöster CO_2 davongetragen werden, und blieb der Fehler außerdem nach einer Seite hin gerichtet. Um die Stromgeschwindigkeit konstant zu erhalten, war es wesentlich, das Gefäß mit dem Nährlösungsvorrat von möglichst großem Durchmesser zu wählen, damit das Niveau der Lösung nur langsam sank. Auf diese Weise wurde eine beinahe völlige Identität der Nährbedingungen von Beginn bis zum Schluß des Versuches erreicht. Uebrigens wandte ich eine derartige konstante Zufuhr der Lösung nur selten (nur bei 2 Versuchen) an, einerseits um den so wie so komplizierten Apparat nicht noch mehr zu verwickeln, andererseits, weil bei der stets großen Nährlösungsmenge, welche im Kulturkolben sich befand, ein Wechseln überflüssig wurde.

Als Versuchsobjekt diente mir, wie bereits oben erwähnt, Aspergillus niger. Die Kultur wurde auf 150 ccm Raulin-Lösung in Dunkelheit bei 32 ° C rein erzogen; bei ungefähr derselben Temperatur gingen auch die Versuche von statten. Wegen des geringen, durch dünne, gasableitende Röhren stattfindenden Luftwechsels, wurde am folgenden Tage nach der Aussaat durch den Kolben mit den Pilzen mit Hilfe eines Luftaspirators Luft eingesogen (die Saugung geschah natürlich durch einen Watteverschluß). Auf diesem Wege wurden herrliche Pilzkulturen erzielt, welche die Nährlösung mit einer gleichmäßigen, dicken, aber ziemlich lockeren Schimmelhaut bedeckten. Bei einigen Versuchen (wo dieses angegeben) wurden der Raulin-Lösung die Zinksalze entzogen. In diesen Fällen wurde ein viel dünneres Mycelium erhalten.

Der Gang jedes Versuches war folgender: 2—3 Stunden vor Beginn des Versuches resp. der Bestimmung der produzierten CO_2-Menge wurden die Kulturen aus dem Thermostaten, wo sie herangezogen worden waren, übertragen in das Wassergefäß (*E*), dessen Temperatur mit der anzuwendenden fast übereinstimmte. Gleichzeitig wurde der Luftstrom und, wo dieses angewandt wurde, der Nährlösungsstrom durch den Apparat geleitet. Nach 1—$1^1/_2$ Stunden, wenn die Temperatur des Wassers vollkommen konstant geworden, wurde die produzierte CO_2 erst mehrere Male in der Dunkelheit bestimmt, um die Richtung der Atmungskurve nach Möglichkeit festzustellen, dann einige Male bei Licht, und endlich wieder in der Dunkelheit, um

konstatieren zu können, ob die Atmung des Pilzes wieder zu dem früheren Zustande zurückkehrt. Die Titrierung wurde gewöhnlich am folgenden Tage besorgt. Der Pilz wurde nach Beendigung des Versuches getrocknet und gewogen (nicht in allen Fällen). Die Resultate kamen in Milligrammen der vom Pilze erzeugten Kohlensäure zum Ausdruck; sämtliche Ziffern wurden auf eine Stunde berechnet, zwecks bequemeren Vergleichs der Daten mit einander und mit den Angaben anderer Autoren. Für jeden Versuch wurde eine Kurve aufgezeichnet, welche die Atmung und deren unter dem Einfluß des Lichtes herbeigeführte Veränderungen zum Ausdruck brachte. Die Beschreibung der Versuche führe ich nicht in chronologischer Reihenfolge auf, sondern gruppenweise, je nach dem Zustande des Pilzes und den Ernährungsbedingungen, weil der Einfluß des Lichtes auf die Pilze, wie sich erwiesen, in bedeutendem Maße von den genannten Faktoren abhängt. Sämtliche Versuche lassen sich in drei Gruppen teilen: 1) Versuche, bei denen der Pilz sich auf der Nährlösung befand; 2) Versuche, bei denen sich der Pilz auf destilliertem Wasser befand; und 3) Versuche, bei denen sich der Pilz unter ungünstigen Ernährungsbedingungen befand. Zum Schlusse bringe ich zwei Versuche mit Mucor stolonifer (bei allen übrigen Versuchen diente mir Aspergillus niger).

A. Versuche mit Aspergillus niger.

I. Auf Nährlösung.

In Anbetracht dessen, daß Kulturen verschiedenen Alters sich unter den obigen Bedingungen gegenüber dem Lichte verschieden verhielten, führe ich die Versuche mit jungen Kulturen apart von denen mit alten Kulturen an. Unter jungen Kulturen verstehe ich 2 bis 3-tägige, bei denen die Atmungskurve fortwährend steigt, unter alten diejenigen, bei denen die Kurve fällt, trotz reichlicher Nahrung. Das Fallen der Kurve beginnt gewöhnlich (bei 32 ° C) bereits am 3. Tage, d. h. vor der Fruktifikation, wenigstens vor dem Reifen der Sporen. Mikroskopische Untersuchungen habe ich nicht ausgeführt.

1. Versuch. 18. Dez. 1899. Der Aspergillus wurde am 16. Dez. um 5 Uhr abends ausgesät; am 17. Dez. um dieselbe Stunde begann die Leitung der Nährlösung durch den Kulturkolben; sie wurde am Morgen des 18. Dez. eingestellt. Im ganzen passierten den Kolben im Laufe der 18 Stunden gegen 500 ccm Nährlösung. Zwei Stunden vor Beginn des eigentlichen Versuches wurde der Strom erneut. Temperatur 32,7 32,8 °. Ohne Rührvorrichtung. Elektrisches Licht ohne Reflektor. Der Röhrenwechsel wurde anfangs alle 20 Minuten, später alle 10 Minuten und zuletzt wieder alle 20 Minuten gemacht. Zwecks bequemeren Vergleichs wird bei den alle 20 Minuten ausgeführten Versuchen die Ziffer der produzierten CO_2 doppelt angegeben (das zweite Mal in Klammern). Die Kultur war ganz weiß und zu Beginn des Versuches ziemlich dünn und durchsichtig, zum Schlusse des Versuches war die Kultur merklich herangewachsen und kompakter geworden, wodurch auch das allgemeine Steigen der Atmung während des Versuches erklärlich ist. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Bitter Milk and Cheese.

By **F. C. Harrison,** Director of the Bacteriological Laboratory of the Experiment Station at Guelph, Canada.

During the past summer, one of the leading cheese factories of the Province was very much troubled with an affection known as bitter milk, which gave a very unpleasant flavor to the cheese. The trouble was not a new one at this factory. The year before last, it caused some annoyance and loss, but not so much as last year; and even two years ago it was occasionally noticed; hence it would seem that the infection was increasing from year to year.

The patrons of the factory could not account for the trouble. They had been handling their milk the same way for years and had no trouble until a few years ago. Hence some were disposed to blame the maker. Others that had no siloes, blamed those who had, thinking that ensilage gave a bitter taste to the milk; and others again regarded Ragweed (Artemisia ambrosifolia) as the cause of the unpleasant flavor. None thought that the true cause might be a micro-organism, — because neither patrons nor makers have yet begun to realize the close relation of bacteria to dairying in all its branches.

This and similar troubles are constantly on the increase. J. W. Robertson (1), the Canadian Dairy Commissioner, states that during the first year that the creameries in the North-West Territories were operated there were no bad flavors; that, in fact, it was difficult to get proper souring; but now, not only does the ordinary souring progress in the usual manner, but also a number of bad and "off" flavors are met with. In Eastern Ontario, we have records of rusty spot in cheese; and in NewYork, a number of troubles, such as, sweet flavor in cheddar cheese, and fishy flavor in milk.

Judging from the varied complaints and the increasing number of samples sent to the Bacteriological Laboratory for examination, it is evident that a serious condition of affairs exists, and that the methods of handling milk, as practised on the average farm, must be changed, if we are to improve or even maintain the reputation of our dairy products. Nor should the improvement be confined to the patron; for many factories also need improvement, the commonest defects, according to J. A. Ruddick of the Dominion of Canada Department of Dairying, being bad floors and drainage, cheap apparatus, and improperly constructed during-rooms. These rooms become too warm in summer and give rise to the so-called "heated flavors". The chief defect from the maker's standpoint, according to the same authority, is a weak, open body in the cheese, due to insufficient development of acidity during the process of manufacture.

I may also add that this lack of acidity not only causes open

cheese, but sometimes gives rise to bad flavors as well, for the acid checks the development of many injurious bacteria that may be present in the cheese.

In August, 1901, we were asked to conduct a series of experiments in order to ascertain the cause of the bitterness in the milk. During that month the factory had bitter milk nearly every day, although it was very difficult to detect by smell at the time the milk was dumped into the weigh-can; but, in exceptonial cases, the bitterness could be detected even then. The bitterness could be more easily smelt when the vat was warmed up for setting; and the odour increased as the curd was heated. When the curd was very bitter, the top of the whey foamed with small gas bubbles, especially when stirred.

The following notes on the making at the factory are given so as to show how the milk and curd behaved when the bitter organism was present.

Culture. About one-half of one per cent. acid culture was added to each vat at the time of commencing to fill the wats with milk.

Condition of milk. Most of it seemed in fair condition, but on a few cans the so-called "bitter flavor" could be detected.

Setting the milk and heating curd. The milk was ready to set soon after heating up (Average per cent. acid, per alkali test, .182). The agitators were set in motion soon after the cutting of the curd; then, after the temperature was raised to 98° F., a hand-rake was used. During the process of heating, the flavor became very pronounced on all the curds.

Dipping. Most of the curds were dipped early. The whey was run off when the acid showed about 3/8 in. on the hot iron (Av. per alkali test, .210). The stirring was continued from 15 to 20 times, according to the condition of the curd. The acid developed so fast on some curds that it would draw out about one inch. Before the stirring was completed, the curds showed also a correspondingly high acid per alkali test.

Milling. The curds were ready to mill in a little over two hours from time of dipping (Av. alkali test, 1.152). After milling, they were washed with about 8 pails of water at a temperature of 98° F.

Maturing and salting. When freshly milled, the flavor is strongest; but there seems to be a permanency about the bitter flavor; and there is little improvement while the curd is maturing. The mellowing down process is also very slow. Probably this is quite largely due to the excessive amount of stirring required to dry the curds at dipping time. In some vats, the bitter flavor was more pronounced than in others, and was occasionally accompanied by an aromatic flavor, or fruity flavor, especially noticeable when one pulled up the cheese cloth, to turn the curds at the end of the vat. The curds at salting time had a fine, mellow, velvety feeling, although the change during the last hour and a half or two hours, was slight. The curds showed a very high acid all

through. Two curds, tested after milling and again just before salting showed a gain of only .034 per cent acid.

Samples of the bitter curd were brought to the Laboratory, and among the micro-organisms separated was a yeast-like species which produced a bitter taste in milk. Large numbers of other varieties of yeasts were present, some of which gave pleasant, ethereal odours when grown in beer-wort.

From the cultures obtained from the curd, starters were made and added to the milk; and small experimental cheese were made therefrom. One of these cheese had a flavor which was very similar to, if not identical with, that of the cheese in the factory referred to; and, having thus succeeded in demonstrating that the bitterness could be produced at Guelph, and that it was due to a form of yeast, we decided to analyse bacteriologically samples of the mixed milk from every patron of the factory, to ascertain if the "bitterness" came from the milk furnished by certain individuals, or if it was a general infection.

Samples of the milk of each person were taken in sterilized bottles as it was poured from his can into the weighing can. These were then packed in a box and sent to the laboratory. They arrived there in good condition. No bottles were broken and no corks were blown out. Cultures in beer-wort and beer-wort gelatine were made from each sample. The sample itself was placed in the incubator at 37.5° C. for 24 hours; and at the end of that time it was examined for gas, digestion of curd, and flavor. The wort cultures were also incubated at 37° C. for 48 hours, and then examined microscopically for the presence of yeasts. The wort gelatine plates were kept at 20° C.; and, as the colonies developed, they were studied; and, if necessary, isolated. In this way 99 samples of milk, from as many different farmers, were examined; and yeasts were found in 97, in many cases several species being present; but the predominant variety was the one giving rise to bitter milk, to which I have given the name of Torula ama'ra, or the bitter Torula. B. coli, B. lactis aërogenes, and B. subtilis were also present in the majority of samples; and the following species of bacteria and moulds were also quite common, Oidium lactis, Penicillium glaucum, Proteus, Saccharomyces anomalus, the Pink torula, and a number of species that were not determined, viz., yellow chromogenic forms, a red mould, a capsulated bacillus, various cocci, various yeasts, a slime-producing bacillus etc. — a rich and diverse flora.

In fact, the bacterial flora was so rich that is was thought advisable to visit all the patrons, examine the conditions under which the milk was kept, and endeavor to locate the habitat of the bitter torula. The farms of some 82 patrons were visited. Samples of the foremilk (or first milk drawn each teat) of a number of cows were taken; also of the can and pail washings; and, if the milking was done in the stable, a sterile Petri dish, the lower surface of which was smeared with sterilized gum tragacanth,

was exposed for about a minute to the stable air, when the cover was replaced and the dish wrapped up in sterilized paper.

All these samples were then taken to the laboratory where the examin ation was continued.

Before passing on to a description of the bitter organism I may mention the fact that the cheese cloths were of a peculiar red color, especially where the were in contact with the sink. The color was found to be due to a pigment secreted by a mould, which was quite common in the mixed milk, and which I subsequently found to be very common in dusty stables. The cloths were well cared for, washed and boiled; but the red color was not removed. They were, in fact, dyed with a permanent or fast color. Of course, in this case, the maker was not to blame; but the patrons by cleaning and white washing their stables, could most probably have prevented the trouble.

Causes of bitter milk.

Bitterness in milk is produced by several causes, which may thus be classified:

I. Certain foods, such as, ragweed, lupines etc.

II. Advanced lactation, especially just before the cow becomes "dry".

III. Disease of the udder. In Mastitis (or inflammation of the udder), the composition of the milk is considerably changed; and a bitterness, or more commonly a salty taste, is produced. In most cases, this change is revealed by the appearance of the milk, which becomes a watery, serous-like fluid.

IV. The growth of micro-organism in the milk.

In the first three, the bitterness may be noticed immediately after milking; but, if the bitterness is due to an organism, the bitter taste appears only after some time; and it is with this clast that the present investigation deals.

The biology of the bitter organism.

As has already been stated, the organism producing the trouble was a Torula, which was found in nearly every sample of milk examined.

Historical resume. In 1860, Pasteur (2) whilst working on the theory of spontaneous generation, noticed that milk which had been boiled did not sour like other milk, but became bitter and contained butyric instead of lactic acid. Further, he noticed that the organisms obtained from the bitter milk were different from those observed in ordinary sour milk. They were motile, and were at first thought by Pasteur to be Infusoria. By the use of a higher temperature, he was able to destroy them; and then step by step, he separated the lactic fermentations from the butyric.

Meissl (3) and Loew (4) somewhat later, noticed a bitterness the same as had been observed by Pasteur.

Duclaux (5) in his work on the ripening of Cantal cheese

isolated a bacillus "Tyrothrix geniculatus", which produced a bitter substance in the presence of oxygen. This organism was probably related to the hay bacillus.

Nägeli (6) in 1879 definitely stated that the bitterness was due to the action of micro-organisms which resisted the boiling temperature.

Liebscher (7) wrote on bitter milk in 1883, and noticed that after some days, it putrified, and that sulphuretted hydrogen formed. He suggested the possibility that the change was due to bacteria, probably a form of Proteus vulgaris.

Hueppe (8), in his first paper published upon this subject, also definitely stated that the bitter taste of sterilized milk which had been standing some time, was not due to a change in function of the lactic acid bacteria, but that in such milk there were other bacteria which resisted the heat to which the milk was subjected and consequently produced specific changes in the milk. He referred the bitter taste to B. butyricus. This germ, however, is not identical with other butyric bacteria found by Van Tieghem, Prażmowski, and others.

Loeffler (9) found in milk four bacteria (B. liodermis, B. mesentericus vulgatus, B. lactis albus and B. butyricus) which gave to sterile milk a biting and slightly bitter taste. These germs produced peptone and butyric acid.

Kruegger (10) isolated from a sample of bitter milk a species of bacillus very similar to, if not identical with Proteus vulgaris. This germ produced butyric acid, as well as the well-known putrefactive fermentation. He deemed the trouble due in some instances to micro-organisms, probably Proteus, but gave no account of sterilized milk being made bitter by the growth of this germ in it.

Wiegmann (11) found a bacillus in sweet milk which when grown in sterilized milk gave a very strong bitter taste in 24 hours. This organism, even after one month's in milk, did not curdle or digest the casein. In old milk cultures, the bitter taste changed to a salty bitter one. Wiegmann questioned the conclusion that butyric acid produced a bitter taste, as this acid has of itself no bitter taste. His bacillus produced no butyric acid, and he thought that the bitterness was due to the decomposition of the albuminoids of the milk.

From a sample of bitter cream, Conn (12) isolated a micrococcus which gave extremely bitter taste when grown in sterilized milk. This organism curdled milk with a slight acid reaction and subsequently the curd was somewhat dissolved, and the liquid formed was slimy. When grown in bouillon, the odor, taste, and sliminess resembled that of the bitter milk. The presence of butyric acid was determined in the culture, and butter made from the bitter milk was rancid, after two days, it was "strongly rancid, and the taste strong and burning".

This case of Conn's is noteworthy as being the first example of bitter milk naturally experienced. Previous cases were usually

associated with imperfect sterilization of milk, due to the growth of spore-forming organisms.

Weigmann's germ does not seem to have been of economic importance, as it was isolated from sweet milk, and Krueger cannot be said to have substantiated his statements by direct infection and subsequent production of bitterness by means of his Proteus vulgaris species.

Hueppe (13) in his second paper referred the bitter taste to Mesentericus vulgatus as well as to B. butyricus. He expressed the opinion that bitterness was due to the production of peptones, and in support of his opinion cited the fact that all the bacteria found in bitter milk belonged to the class of peptonizing organisms (those that liquefy gelatine); but he did not deny that there were bacteria which were capable of producing bitter substances of a special nature. We must also remember that there are very many bacteria which liquefy gelatine, but do not produce bitter milk, which latter is by no means a common occurrence.

Bleisch (14) isolated from milk imperfectly sterilized by the Neuhauss-Grünwald-Oehlmann's method a bacillus which produced bitter milk. Peptone was produced. This germ formed spores which resisted a temperature of 100° C. (steam heat) for 6 hours. It was probably allied to the B. butyricus of Hueppe.

Freudenreich (15) isolated from a bitter cheese a coccus, M. casei amari, which produced a bitter taste in both milk and cheese. It produced acid and liquefied gelatine, a rather remarkable combination. Cheese made from milk containing a culture of this organism was bitter. It produced peptone (0,8 %); but the bitterness was not entirely due to peptone, as de Freudenreich succeeded in separating bitter substances which did not belong to the peptones.

The same worker also isolated from cream another species, B. liquefaciens lactis amari; and fresh cheese inoculated wish this germ had a bitter, disagreeable odor. The germ probably belonged to the putrefying organisms.

O'Callaghan (16) found a yeast which gave a sharp, bitter taste to milk, forming alcohol. He stated that it would be injurious to buttermakers and still more so to cheesemakers, although no experiments were made to support these statements. He named it Saccharomyces lactis, but did not describe it; and Beijerinck also and others have given this name to yeasts found in Kephir and milk.

Investigations at Guelph.

During the summer of 1899 and 1900, samples of bitter milk were occasionally sent to our laboratory; but last summer the complaints became so frequent that we thought it advisable to make a thorough investigation of the trouble in connection with the trouble at the factory above referred to.

Torula amara.

Source and habitat. A torula which gave a bitter taste when grown in sterilized milk was repeatedly isolated from hundreds of samples of cheese and milk, can-washings, whey, etc., which were analysed.

The well-known fact that yeasts are constantly found on the surface of fruits and leaves, — as, for example, Saccharomyces Comesii, found by Cavara (17) on the pedicels of millet; Saccharomyces Ilicis, discovered by Gronlund (18) on the fruits of Ilex aquifolium; and a yeast present on the fruit of the Mahwa (Bassia latifolia), a Sapotaceus tree from the flowers of which a strong alcoholic drink is made, led me to examine the fruit and trees near where the milk-cans were kept; and from the leaves of certain species of maple, I isolated a torula identical with the species so frequently found in the milk and can-washings. This torula I have named Torula amara.

Form and size. Grown in beer-wort (11.2 Ball.) in Boettscher's moist chamber, the cells are generally oval in shape, and of varying size. Some are as long as 10 μ, but the average lies between 7.5 and 9.0 μ. After some days' growth, the cells become filled with large vacuoles, and the cell-wall somewhat loses its sharp outline. Buds are usually formed at the smaller end of the cell. In milk (24 hrs. at 37° C.) the cells are usually oval, but round and egg-shaped ones occur. The cells occur singly, in short chains of three or four, or in small clumps.

On beer-wort agar at 37° C., the cells are somewhat largar, more irregular in shape, and contain numerous small oil-drops.

Spore formation. No spores are formed. Spore blocks mode from young, vigorous cultures, kept at 20°, 25° and 37° C. for 7 days, and observed at short intervals, contained no spores. Cultures in wort, peptone whey, and yeast water never produced spores at the temperatures given above, even when all conditions prescribed by Hansen were present.

There has not been any formation of spores in old cultures, some of which have been under observation for four months. Thus the organism is not a true Saccharomycete, but a torula.

Wort (11,2 Ball.). In two days, at 25° C., there is an abundant growth; the liquid is slightly turbid, but there is no pellicle or film. On shaking, numerous small bubbles form a deep layer of foam on the surface. In four days the liquid is clear and bright; no pellicle ever forms; about 2 % of alcohol appears. In cultures kept in small Erlenmeyer flasks at 37° C., a "yeast ring" forms; but, at room temperature, no ring develops, even after two months' growth.

The reaction of the wort, after fermentation ceases, and the carbonic acid gas which is driven off is very slightly acid. In whey containing 1 % peptone and .25 % Nährstoff Heyden, the growth is very similar to that in wort. There is an active fermentation and the reaction of the medium afterwards is slightly acid. In whey which has been boiled or filtered, nearly 3 % of alcohol

forms in 8 days at 37° C., and no trace of sugar is found. In yeast-water, there is a heavy deposit, and no film is formed.

Wort gelatine. In two days, at 20° C., pin-point colonies, about 0.5 mm. in diameter, are visible, the surface ones being slightly convex. Under the microscope (2—3 obj.), the colonies are dark with entire edges. In four days, they are round, greyish white, shiny, and from convex to capitate. They are not at all characteristic.

Beef peptone gelatine. Colonies in this medium are somewhat smaller, but resemble those in wort gelatine. In four days they are still similar to those above described, but under the microscope the edge of the colony is slightly rough.

Wort gelatine stich. In ten or twelve days, the line of puncture is beaded. The beads are distinct, and of considerable size; later (20 to 30 days), a dense, spiny growth radiates from the beads; but the projections are not sufficiently long or branched to justify the term arborescent. They may be called echinate. The surface growth spread from 10 to 15 mm. is umbonate, waxy, greyish white in color, but of a light brown shade towards the centre.

Wort gelatine mass culture. These cultures were made by placing a drop of wort culture on the surface of the gelatine. The surface growth spreads over the entire surface in 30 days. The edges are thin and slightly rough. The centre is elevated, forming a plateau, which is quite flat, or slightly depressed, and about 8 to 10 mm. in diameter. The under surface of the growth is pulvinate and extends downwards into the gelatine to a depth of 4 mm.; and very short, crowded, echinate projections demarcate the line of contact between the growth and the gelatine. These is some digestion or very slow liquefaction.

Wort agar slope. Grows very quickly at 37° C.; and in three days a slightly raised, spreading, greyish white, moist, glistening growth is seen, which becomes more massive with age.

Beef peptone agar slope. In 8 days, at 25° C., there is a flat, somewhat glistening growth, iridiscent like mother-of-pearl.

Potato. On this medium, there is a slightly raised growth in 3 days at 20° C., only distinguishable from the color of the potato by its dull appearance. In 7 days, there is no change. At 37° C., the growth is sligthly yellower; otherwise, similar to that at 25° C.

Saccharose media. In Cohn's medium, with the addition of 6 % saccharose, a trace of gas forms after 7 days' growth at 25° C. No film is formed, but there is a heavy deposit.

In yeast-water, with the addition of 6 % saccharose, and under the same conditions, considerable gas is produced. There is no film, the body of the liquid in both cases being clear; but there is a heavy deposit. The sugar is inverted (Fehling's solution). In Bouillon containing 1 %, peptone, .25 % Nährstoff Heyden, .5 % salt, and 6 % saccharose, gas is produced, and the growth resembles that in saccharose yeast-water.

Dextrose media. In Cohn's medium, with 6 % glucose, there is a slight trace of gas in 7 days at 25°. There is no film, no turbidity, but a heavy deposit.

In yeast-water, dextrose (6 %), the growth is similar to that in Cohn's medium, but there is more gas.

In peptone-Heyden-saccharose (6 %) bouillon, some gas is produced, but otherwise the growth is the same as above.

Lactose media. In Cohn's medium, with 6 % lactose, there is considerable turbidity in both arms of the tube. There is no film, and 90 % gas is formed.

In yeast-water lactose (6 %), the liquid is clear, there is no pellicle, and 95 % gas is formed.

In peptone-Heyden-lactose (6 %) bouillon, the growth is similar to that in yeast-water lactose; and 96 % gas is produced.

Mannite media. In peptone-Heyden-lactose (6 %) bouillon, a slight trace of gas is formed. There is no film, the liquid is clear, but there is a heavy deposit.

Effects on milk.

Milk. In sterile milk, the bitter taste can be detected after 5 or 6 hours growth at 37° C. In 14 hours, the taste and smell are disagreeable and strong. The odour of cultures a few days old resembles plum kernels, and the taste is very unpleasant, bitter, and astringent. In 10 days, at 37° C., the milk is slightly thickened, slightly acid, and the odour and taste are both pronounced. A slight, aromatic, ethereal smell may also be detected; but it is frequently masked by the bitter taste. There is much gas formed.

Cultures give the biuret action, indicating the presence of peptones. No butyric acid is present.

Effects of heat, drying, antiseptics, etc., on Torula amara. Thermal relations. The optimum for growth is about 37° C. Growth at 25° C. abundant, and at 20° considerably slower. No growth occurs at 5° C., and none at 48° C.

The thermal death-point was determined in triplicate, by Sternberg's method in whey bouillon:

10 minutes	at 56° C.	living.
10 „	„ 60° „	in two tubes, no growth; in one much growth.
10 „	„ 62° „	no growth, — all dead.

A moment's exposure at boilling temperature (98.5° C. in Guelph). Growth.

5 seconds at boiling temperature	No growth.
10 „ „ „ „	No growth.

As this torula was found in the can-washings of nearly all the patrons, a practical test was made to see if the ordinary scalding with water at about 200° F. was sufficient to kill it. A 25 gallon, straight-sided can was thoroughly steamed, and then rinsed with a culture of the bitter torula. At the end of twelve hours the can was cleaned with warm water, and a kettleful of water at 200° F. poured down the inside and then well rinsed; and the

water poured out. After this, the can was rinsed with sterile wort, which was then collected in a sterile bottle, and incubated. In 12 hours, there was abundant development of the Torula. The amount of water used for scalding was 3 pints; and the experiment was afterwards repeated using 12 pints, but with similar results, the Torula not being killed.

Effect of dessication. Cover glasses spread with a 24 hour-old culture were exposed in the open air at a temperature which varied from-15° C. to 5° C. A cover glass was placed in whey bouillon at the end of every 24 hours. For the first seven days, growth occurred in all the cultures; but on the 8th and following days, no growth occurred.

Effects of antiseptics. A 2 % soda solution at 55° C. failed to kill the Torula in 5 minutes, but in 10 minutes all the cultures were sterile. A 4 % solution killed the Torula in 5 minutes.

Action of acids. The determination of the amount of acidity in the culture medium (yeast-water) was made after sterilization.

1) Tartaric acid (1.125 %), — more growth occurs in cultures with this amount of acidity than in the control cultures.

2) Tartaric acid (2.025 %), — There is some growth, slightly less than that in the control tubes.

3) Lactic (1.2 %), — More growth occurs in cultures with this amount of acidity than in the control tubes.

4) Lactic acid (2.4 %), — There is a flocculent deposit, and less growth than in the control tubes.

Effects of acid whey on Torula amara.

By the rapid development of acid in whey, cheesemakers are able to control many abnormal fermentations; ant it is, therefore, of considerable importance to ascertain whether or not the bitter flavor may be controlled in this way. A number of experiments were made to determine the effect of acidity on the bitter Torula.

In the first series, acid whey, containing 1,08 % lactic acid, was used, and the vigor of growth was determined by the amount of fermentation. In such a medium, 50 % gas was formed. The control culture in ordinary whey gave 85 %. When the neutral sterile whey was inoculated with the bitter Torula and B. acidi lactici together, 70 % gas formed. Acid whey (1,08 %) simultaneously inoculated with the Torula and the lactic acid bacillus, gave 48 % gas.

These results, taken alone, seem to indicate that a considerable amount of acidity somewhat prevents the acitivity of the Torula; but I subsequently repeated the above experiments, using the same Torula; which after repeated transfers in whey, gave a more vigorous fermentation than originally. With this culture in fermentation tubes containing whey peptone bouillon, kept at 37° C. for 48 hours, I obtained the following results:

Torula amara	90 % gas.
„ „	88 „ „
„ and lactic acid bacillus	90 „ „
„ „ „ „ „	76 „ „
„ „ „ „ „	87 „ „
Whey and skim-milk mixed:	
Torula	93 „ „
„ and lactic acid bacillus	94 „ „

Skim-Milk, — In this case, the lactic acid bacillus coagulated the milk and formed a solid curd, which shrunk and adhered to the sides of the tubes; but the gas forced the whey into the open arms, leaving the following amounts of gas in the closed arm:

Torula	94 %
„ and lactic acid bacillus	92 „
„ „ „ „ „	89 „

These more extended experiments go to show that the development of acid does not hinder the growth of the Torula; and the experiments are in accord with what we know regarding other yeasts. For example, an acidification with lactic acid bacteria is used in distilleries to prevent the growth of injurious bacteria; but the amount of acidity present in the mash, about 1,1 %, does not prevent the subsequent growth of the yeast.

A final experiment on the influence of acid and temperature on this Torula was made by growing the Torula in whey containing 1 % lactic acid, at temperatures of 20°, 25° and 37° C.

Average of two tests	20° C	25° C	37° C
Original number in flask per ccm.	3	1	1
Six hours after	5	4	72
Nine hours after	5	15	350
Twelve hours after	93	290	2950

With the optimum temperature (37° C., the growth was very rapid, and fully accounts for the strong development of the bitter flavor under factory conditions.

We conclude, then, that the development of acid in milk or curd, whether by the regular process of souring, the addition of a starter, or inocnlation with the lactic acid bacillus, does not destroy the Torula, nor remove the injurious effects.

In the above account of the Torula amara, I have emphasized the economic importance of the organism, and the injury it causes when present in cheese; but it has a very vigorous action on the milk sugar also; and organisms possessing this power are not very common, especially if we exclude the yeasts which have been described as occuring in koumiss and kephir granules. Pirotta and Riboni (19) in 1879 described a yeast which fermented milk sugar, and named it Sacch. galactocola; but the description, in accordance with the methods then in use, is not sufficiently exact to enable us to identify the species.

Duclaux (20) obtained a lactose fermenting yeast from milk

which was fermented. This species converted all the lactose present into alcohol and did not coagulate the milk, but made it viscous, and had a strong anaerobic tendency. Duclaux was unable to isolate an enzyme, and suggested that the yeast acted directly through its growth, and not by the secretion of an enzyme.

Adametz (21) described, under the name Sacch. lactis, a species which he thought different from Duclaux's (22); but the latter author was rather sceptical about its being a new species, and thought it was the same one as he had found.

Subsequently, Kaiser (23) having found a lactose fermenting yeast, made a comparative study of the three varieties, and came to the conclusion that his species was intermediate between the species described by Duclaux and Adametz.

Grotenfelt (24) and Wiegmann (25) also described lactose fermenting yeast, but they did not describe them sufficiently for subsequent recognition.

Beijerinck (26) in 1899 isolated two yeasts, one from Kephir, which he named Sacch. Kefir, and one from Edam cheese, Sacch. Tyriocola, which fermented milk sugar and produced alcohol; and he further isolated from them an invertive enzyme which he called "lactase", which he found had the power of inverting the milk sugar, but not maltose.

This conclusion was, however, contradicted by Schnurmans-Steekhoven (27), who was unable to invert sugar with the enzyme "lactase"; and afterwards de Freudenreich (28) came to the same conclusion.

Bochiocchio (29) has also isolated a top fermenting yeast from Grana cheese, which produced blisters on the cheese. This form coagulates milk with partial peptonization, and produces an agreeable foaming beverage when grown in whey.

Jörgensen (30) isolated a true Saccharomycete from kephir, which produces about 1 % of alcohol in the course of 8 days. This species he named Sacch. fragilis, on account of the feeble powers of resistance of the cell wall. It produced oval spores, which are soon set free. So far as I am aware, this is the only species of lactose fermenting yeast yet discovered which is a true Saccharomycete.

Duclaux (31) who reviewed the lactose fermenting yeasts in 1900, came to the conclusion that the only three yeasts which fermented sugar (milk sugar) were those isolated by himself, Adametz and Kaiser. Those subsequently isolated are either insufficiently described, and consequently one cannot tell whether they are new species or not; or else they simply assimilate the lactose and burn it in contact with the air.

The Torula amara ferments milk perfectly, even when oxygen is not present. Cultures were grown in whey bouillon in an atmosphere of hydrogen, and the sugar of the medium was fermented. In ordinary whey cultures, the sugar is completely fermented, as the following experiment shows:

Whey containing 37,65 gas of sugar per litre before fermen-

tation, gave no trace of sugar (Fehling's solution) after eight days' growth; and the fermented solution was found to contain nearly 3 % of alcohol.

Kaiser suggested that certain of the lactose fermenting yeasts might be of economic importance; and on account of the complete fermentation of sugar by the Torula amara, we presume, it might be used in the manufacture of alcohol from whey.

Bitter cheese experimentally produced.

A peculiarity about some of the bacteria that produce bitter milk is that the bitter taste disappears when the milk is made into cheese; but the Torula amara produces bitter milk and bitter cheese also. We made several cheese, using cultures of the Torula; and the cheese thus made was very bitter.

The cultures used in the first experiments were made by breaking up a small piece of cheese in sterilized milk, and leaving this for 24 hours at a temperature of about 85° C. The cultures thus secured naturally contained a variety of micro-organisms, probably in somewhat the same ratio to one another as would be met with at the factory. Two pounds of this culture was added to 115 pounds of milk, and left in it for 65 minutes before setting.

The curd developed slowly before dipping, but afterwards worked very fast, and had more than the usual amount of acid present at the times of milling and salting, 0,9 % and 1,143 % acid respectively. The curd was somewhat gassy, and the flavor bad, both at the time of making and subsequently, when the cheese was scored by competent judges. The total score was 76 %, flavor receiving only 25 points out of 40.

Subsequently several cheese were made with pure cultures infected by the bitter Torula. In these cases, the flavor was not absolutely identical with that of the cheese from the factory referred to; but this is not to be wondered at when we remember that the ratio of the organisms to one another in the experiments was not identical with the ratio under the ordinary factory conditions; but, in every case, the product made was bitter and disagreeable, and the aromatic flavor noticeable on the vats of the factory was always present to a greater or less extent.

The scoring of these cheese was as follows:

		Max. 100.		Max. 40.
Cheese No. 1.	Total score	59	Points for flavor	15
,, ,, 2.	,, ,,	74	,, ,, ,,	22
,, ,, 3.	,, ,,	76	,, ,, ,,	24
,, ,, 4.	,, ,,	66	,, ,, ,,	20

Bacteriological data:

A large number of analyses of experimental cheese were made, and the results from all of them were fairly constant; as a sample of these results, the following quantative analysis will serve:

Cheese made Sept. 24th, 1901, 2 % of a culture of the bitter organism used.

Age of cheese.	Lactic acid bacteria per g.	Bitter Torula per g.
7 days	150 000 000	72 000 000
28 „	28 000 000	19 000 000
42 „	11 500 000	3 200 000
71 „	864 000	388 000

The judges reported the cheese to be very bitter and undesirable. score for flavor, 22 out of 40.

Cheese made Oct. 12th, 1901, 2 % of a culture of the bitter organism used. Very little acid developed during the making, but 0.495 % was present at the time of milling. A strong bitter flavor and aromatic "apple pomace" odour were preceptible at the time of making.

Age of cheese.	Lactic acid bacteria per g.	Bitter Torula per g.
7 days	119 000 000	85 000 000
20 „	55 000 000	7 500 000
30 „	51 000 000	3 800 000
42 „	43 000 000	1 665 000

Score for flavor 15 out of 40. Total score 59 %.

In order to study the cheese made at the factory, three were brought to Guelph, one of which was placed in Cold-Storage at an average temperature of 39° F., and the other two were put into the ordinary curing-room. The cheese exhibited a fair sample of the trouble complained of at the factory, they were quite bitter.

Cold-Storage cheese:

Age.	Lactic acid bacteria.	Bitter Torula.
28 days	342 000 000	3 200 000
42 „	271 000 060	1 570 000
90 „	48 600 000	162 000

Left in the ordinary curing-room:

No. of days.	Lactic acid bacteria.	Bitter Torula.
28	59 000 000	960 000
Oct. 21. 42	38 000 000	800 000
Dec. 4. 90	5 184 000	58 000

The judges considered that the refrigerator cheese was superior in flavor to the cheese in the ordinary curing-room, although both were made from the same vat.

The bacteriological results show that a larger number of yeasts were present in the cold-storage cheese, and the number of acid bacteria present was also greater. When we take into account the proportion between the acid forms and the yeast, we notice that in the cold-storage cheese the ratio at 42 days was 1:147; and in the ordinary curing room 1:48. At 90 days, it was 1:300 and 1:90 respectively. Thus the proportion of bitter yeast to lactic acid bacteria was much greater in the cheese kept in the ordinary curing-room; and this may possibly account for the difference in the flavor noticed by the judges, although the refrigerator cheese could not be called good, as the bitter flavor was quite noticeable.

To some, however, it may seem that the number and proportion of the bitter torula to tho lactic acid bacteria was out of

all proportion to the effect produced; in other words, that there were too few of the bitter torula to produce so much bitterness and bad flavor in the cheese. We must remember, however, that the torula is fully 20 times as large as the lactic acid bacterium; and we may assume that the changes brought about by the torula were in proportion to its size.

Several analyses of curd taken from the factory, just before putting to press, gave as many as 21 000 000 torula per gram; and taking into account the comparative large size of the organism, we see that these results are quite in accord with the bad flavor produced in the cheese.

Butter experiments.

It was suggested that if the factory was turned into a creamery for a season or two, the bitter flavor might disappear; but before suggesting that course, we thought it advisable to conduct a few experiments to determine the action of the bitter Torula on cream, and its subsequent action on butter.

The experiments on the effect of the bitter Torula were made with both sterilized and pasteurized cream.

Sterilized cream. The lot of sterilized cream was ripened with a starter composed of a culture of lactic acid bacteria and a culture of the bitter Torula in equal proportions; 15 % of this mixed culture was used; and the cream was ripened at 22° C. (70° F.) for 18 hours. The acidity at churning time was 0,72 %, and the taste was sour and bitter. The cream was cooled and churned. The butter in the granular stage was of good appearance, but somewhat spongy. Two days after making, the sample was scored by an expert judge, who gave it 32 points out of 45 for flavor; and he remarked that the butter had a flat, tallowy taste, without butter aroma.

Pasteurized cream. The lot of pasteurized cream (160° F.) was ripened with a starter containing the bitter torula, for 12 hours, at 68° F. Very slight acidity developed, but the sample churned easily in 18 minutes. The granular butter was very pale in appearance, had an aromatic odour, and a nauseating bitter, astringent taste. It would be impossible to sell such butter in any market.

Subsequently several churnings were made as detailed above; and in every case the butter was very bad, and had a pronounced, bitter, disagreeable taste.

These experiments show that the trouble cannot be got rid of by changing from cheese-making to butter-making for a time.

The majority of summer creameries in the Province of Ontario do not pasteurize their milk; and where pasteurization is not done, there is danger of trouble from the bitter organism, especially if the skim-milk is returned to the farmers in the cans in which the whole milk is conveyed to the factory; and the danger is the same whether the factory is used for making butter or cheese.

Summary of the bacteriological analyses of stable air, fore-milk, can washings, and mixed milk of 96 farmers of the factory.

T Bitter torula; L Lactic acid bacillus; C Bacillus coli; A Bacillus lactis aërogenes; S The haybacillus; O Other yeasts than the bitter one; Y Ropy milk bacillus; M Moulds; R Red Mould; X Harmless bacteria; P Proteus group.

No.	Stable, clean +, dirty —, Ventilation, etc.	Germ content of stable air	Germ content of fore-milk	Condition of cans Where kept	Germ content of can washings	Germ content of mixed milk
1	+	M, only a few	L	Good, left long before washing	T, O, C, etc.	T, O, A, C, L, etc.
2	—	M, R, etc.	L	near fruit trees	T, O, A, C, etc.	T and O (1 000 000 per ccm.), S, A, C
3	—	M, R, C, etc.	L, X	„ „ „	T, O, S	T and O (8 000 000 per ccm.), C, A
4	—	M, R, P, C	L, X	old and rusty trees	T, C, S, etc.	T 125 000, A 50 000
5	—, badly lit	M, R, C, Y	L	near barnyard	O, Y, etc.	T, O, C, A 15 000, S, etc.
6	+	M, C.	L, X	under apple trees	T, O, etc.	T, O, A 150 000, S
7	—, very dark	M, C, P	L, etc.	„ fruit „	T, O, S, etc.	T, O, C 100 000, A 200 000
8	—, dark	M, 5 Species, R, C	L, X	„ apple „	T, O, etc.	T, O, A 800 000, P, R
9	Milked in yard which was dusty			„ hops and near barnyard	T, O, S, etc.	T, O, A, C, S, etc.
10	∓	M, C.	L	old, rusty, near trees	T, O, etc.	T, O, C, A, etc.
11	—	M, R, C, S.	L, etc.	under fruit trees	T, O, S, etc.	T, O, A, etc.
12	—	M, R, C, P.	—	close to barnyard	T, O, etc.	T 600 000, C, A, etc.
13	Milked in yard		L, etc.	„ „ road and pig-pen	T, S, C, etc.	T, A 125 000, C 500 000, etc.
14	—	M, C.	L, X	near fruit trees	T, O, S, C, etc.	T 1 000 000, O, A 600 000, C
15	±	M, C, O.	L	under maple trees	T, O, S, etc.	T, O, C, A, R
16	—	M, C.	—	„ „ „	T, S, A, etc.	T 200 000, O, A 400 000, C
17	Milked in yard		—	near barnyard	T, O, etc.	T, O, C, A
18	—	C, P.	—	„ yard and trees	T, O, very few bacteria	T, O, C, A, S, etc.
19	Milked in yard		L, etc.	„ apple trees	T, O, etc.	T, O 200 000, S, etc.
20	—	M, R, C.	—	in barnyard	T, S, etc.	T 400 000, etc.
21	Milked in orchard		L	under fruit trees	T, O, enormous numbers	T and O 1 400 000, C, A
22	+	M, P, few	L, X	by roadside	T, O, etc.	T and O 100 000, C
23	—	M, C, P.	L, etc.	„ „	T, O, etc.	T and O 400 000, A, C, etc.
24	—	M, P.	—	in barnyard	T, O, etc.	T, O, C, S, R
25	—	M, C, P.	—	near barnyard under maples	T, O, many S.	T, O, C, A 100 000
26	Milked in yard		—	under fruit trees	T, O, etc.	T, O, C, A
27	∓	M, R, P.	—	under trees	T, O, etc.	T, O 3 Species, C, A
28	—	M, C, P.	—	in barnyard	S, C, etc.	S, O, etc.

No.	Stable, clean +, dirty —, Ventilation, etc.	Germ content of stable air	Germ content of fore-milk	Condition of cans Where kept.	Germ content of can washings	Germ content of mixed milk
29	—	M, C.	—	under trees	T, O, etc.	T, O, C, etc.
30	— chicken dirt	M, C very many	—	„ maple trees	T, O, S, etc.	T and O 100 000, C, P
31	— dark	M, R, C, P.	—	„ „ and poplar trees	T, O, S, C, etc.	T and O 100 000, C, A
32	Milked in yard		—	near trees	T, O, S, etc.	T 50 000, C 100 000, A, etc,
33	—	M, R, C, P.	—	„ barn	T, Y, S, etc.	T 5 000, C, A 400 000
34	Milked in yard		—	under maple	T, etc.	T, A, S
35	„	„	—	„ a maple	T, etc.	T, C, A
36	—	M, R, C. „	—	„ fruit trees	T, O, etc.	T, O, C, A, S, R
37	—	M, C.	—	„ „ or maple	T, O, S, etc.	T, O, A, C, etc.
38	—	M, C.	—	„ trees	T, very few, etc.	T, A, S, P, R
39	Milked in lane		L	stand under maple	T, O, very numerous	T, O, A, P
40	∓	M, R, C.	—	„ „ „	T, O, „ „	T, O, A, C, R
41	∓	M, P.	—	under fruit trees	T, few, S, Y	T, O, A, R
42	—	M, C, P, etc.		„ „ „	T, O, etc.	T, O, C, A
43	— vent. bad	M, C, P.		„ maple, bad cans	T, O, numerous	T, O, A, S, R
44	∓	M, C, P.		near a vine	T, O, S	T, O, S, A 100 000
45	Milked in yard			under fruit trees	T, O, S, etc.	T and O 1 500 000, A
46	—	M, R, C.		cans dirty	T, O, S, P	T and O 2 500 000, A, C
47	— vent. bad	M, C.		under vine and maple	T, O, etc.	T and O 1 600 000, etc.
48	—	M, C.		left long before washing	T, S, very numerous	T 400 000, S, A, etc.
49	—	M.		in a wooden trough	T, S, etc.	T, S, A, C, R
50	∓	M, C.		under trees	T, O, S, etc.	T, O, S, C, R
51	Milked in lane			near vine	T, O, etc.	T and O 400 000, C, etc.
52	—	P, O.		„ fruit trees	T, O, etc.	T and O 2 000 000, C, S
53	Milked in lane			cans dirty	T, O, S, etc.	T, O 3 species C, A, S
54	„	„ „		left long without washing	T, O, etc.	T, O, C, A, etc.
55	+	M, C.		dirty cans	T, O, etc.	T, O, C, A, etc.
56	—	M, C, P.		near stable	T, O, etc. Pails only bacteria	T 50 000, C 100 000, etc.
57	—	M, C, P.		left long without washing	T, M, etc.	T, O, C, A 200 000
58	+	M, C.		kept lying on ground	T, etc.	T, C, A 150 000
59	Smell from piggery	M, C.		near fruit trees	T, O, S, etc. also pails	T, O, C, A, R
60	—	M.		near the lrood	T, S, pails, S, etc.	T, O, C, A
91	—	M, C.		under an apple trees	T, etc. Pails too	T and O 2 500 000, C, A
62	—	M.		„ poplars	T, S, etc.	T and O 1 500 000, C, A

No.	Stable, clean +, dirty —, Ventilation, etc.	Germ content of stable air	Germ content of fore-milk	Condition of cans Where kept.	Germ content of can washings	Germ content of mixed milk
63	Smell from swine	M, R, C, P.		under vine	T, C, S, etc.	T, C, P, S
64	+	M, C.		cans contained rain water	T, O, etc. Pails no yeasts	T, C, A
65	— vent. bad	M, C, P, numerous		under maple trees	T, O, etc.	T, C, A, P, R
66		Milked in lane		under poplar	T, O, Pails T, S	T, A, C 250000, etc.
67	—	M, R, P, etc.		milk sieve dirty	T, S, etc.	T 5000, C, A 120000
68	±	C, M.		kept in trough	T, S, etc.	T 300000, C
69	— vent. bad	M, C.		left long before washing	T and O	T, A, P
70	—	M, R, P.		lying in grass	T, etc.	T, O, A
71	—	M, R, C.		not clean, near trees	T, O, S, P, C	T, S, C, A, etc.
72	∓	M, P, C.		under fruit trees near stable	T, O, etc.	T and O 2200000, C, A, etc.
73		Milked in lane		„ fruit trees	T, O, etc.	T, O, C, A, etc.
74	—	M, P, C.		„ poplar trees	T, etc.	T, O, C, S, etc.
75	+	C, few		in the lane	T, O, S, etc.	T, O, C, A, P
76	±	M, P, etc.		under maple trees	T, etc.	T, C, R
77	—	M, C, P.		on grass	T, S, etc.	T, O, A, C
78	— vent. bad	M, C, P.		on the milk-stand	T, O, S, etc.	T, A, C, R
79	∓	M, R, C.		cans dusty maple	T, O, etc.	T, O, A, C
80	+	M.		between house and stable	T, O, S, C, etc.	T, O, A, C, etc.
81	∓	M, P.		under basswood	T, O, very numerous etc.	T, O, A, R

In the cases of the following patrons, the mixed milk only was examined.

81 The bitter torula, another yeast and B. coli.
82 „ „ „ „ „ „ „
83 „ „ „ two yeast and Red Mould.
84 „ „ „ B. coli, and a capsulated bacillus
85 „ „ „ B. subtilis, B. coli.
86 „ „ „ Oidium lactis, B. subtilis, a capsulated bacillus
87 Two species of yeast, B. lactis aërogenes, and Red Mould.

88–96 } The milk from all these patrons contained one or two species of yeasts, B. coli, or B. lactis aërogenes, or both were present in all samples.

The above tables summarize as briefly as possible the results of personal visits to the patrons of the factory, and the bacteriological analyses of fore-milk, stable air, can washings, and the mixed milk of each herd.

I regret to say that the stables were very generally dirty, — the beams and ceilings being covered with dust and cobwebs; and in a number of cases, the floors, stanchions, etc., were foul with the droppings of cattle or poultry. In such cases, the stable air gave large numbers of B. coli and B. lactis aërogenes. In such stables, moulds were usually present in large numbers; and the red mould, of which mention has already been made, was found in 19 stables. All the microorganisms isolated from these dirty stable airs were unfavorable to cheese and buttermaking. In cases where milking was done in the barnyard, there usually was a large infection from the Colon bacillus, and other undesirable species.

Only a limited number of analyses of the fore-milk were made, as the bacterial content did not seem to warrant this line of investigation. The Bacillus acidi lactici (Esten) and some slow-growing, harmless bacteria were isolated from the fore-milk of about 100 cows. (Cowsmilked in the open air, and samples collected in sterilised test tubes.) In no case was the bitter Torula present nor any representative of the Colon group.

In view of the large sums of money which patrons receive from the factory, it is astonishing that little or no effort has been made to provide proper places for keeping the milk. The only general precaution taken is to cover the can with a wire screen to keep out the cats: and in many cases the place selected for the can is quite unsuitable. The patrons, as a rule, seem quite unaware of the possibilities of infection from road-dust and barnyard air; and they do not understand the importance of controlling the temperature.

The huge numbers of bacteria and the great diversity of species found in the can-washings were very noticeable throughout our investigations. The bitter Torula was present in all samples but two; and in one of these the farmer did not draw the whey home in his milk can but used another vessel. I have elswphere dwelt on the difficulty of washing cans properly on the farm; and from the bacteriological evidence here presented, we are quite safe in saying that when the milk cans are once thoroughly infected with micro-organisms, it is almost impossible to kill these organisms by the methods of can washing generally practised on the farms of this Province. We should not, therefore, lose sight of the fact that the more thorough the washing, the less the liability of infection from undesirable bacteria.

The mixed milk of the different patrons contained the bitter organisms in varying numbers. In some, very few torulae were present; in others, they existed in enormous numbers. In samples of whey taken from the vats, there were large numbers; and it is evident that these organisms carried back in the whey became a permanent source of infection. They may in fact be described as

endemic in this district. Hence, even if the cans are washed and sterilized, there may occur conditions which will produce a recurrence of the trouble.

The cheesemaker of the neighboring factory (who washes and sterilizes the milk cans in the factory) informed me that on one or two occasions during the summer bitter milk was delivered at his factory; and he added "we should undoubtedly have had serious trouble, had it not been for the fact that we washed and sterilized all milk cans in the factory."

In addition to the bitter torula, the Colon group of bacteria were well represented; and they are most undesirable for the maker, as they give rise to gas and undesirable flavors, and in colored cheese produce mottles. Certain bacteria belonging to the B. lactis aërogenes group also produce a somewhat bitter taste in milk; and these add slightly to the bitterness produced by the Torula amara.

A bacillus producing slimy milk was also occasionally found in the can washings and stable air, — a fact which shows that bacteria of this class are rather wide-spread; and, given certain conditions, an epidemic of slimy milk might occur.

References.

1) Robertson, J. W., Report of the Dairymen's Association of Ontario. 1900. p. 39.
2) Pasteur, Compt. Rendus. T. LII. 1861. Ann. de Chimie et de Phys. 1860.
3) Meissl, Sur les alterations de la caseine du lait. (Bull. Soc. chim. de Paris. T. XXXIX. 1883. p. 556.)
4) Loew, Sur les alterations du lait conservé. (Bull. Soc. chim. de Paris. T. XXXIX. 1883. p. 557.)
5) Duclaux, Fabrication, maturation et maladies du fromage de Cantal. (Annales agronomiques. 1878.)
6) Nägeli, Theorie der Gärung. München 1879. p. 103.
7) Liebscher, Wiener landw. Zeitung. 1883, quoted from Kramer, Die Bakteriologie in ihren Beziehungen zur Landwirtschaft. Wien 1892.
8) Hueppe, Untersuchungen über die Zersetzung der Milch durch Mikroorganismen. (Mitteilung a. d. kaiserl. Reichsgesundheitsamt. Bd. II. Berlin 1884. p. 309.)
9) Loeffler, Berlin. Klin. Wochenschr. 1887. p. 630.
10) Kruegger, Molkerei-Zeitung 1890. No. 30, quoted from Kramer, loc. cit.
11) Weigmann Milch-Zeitung. 1890. p. 881.
12) Conn, Ueber einen bittere Milch erzeugenden Micrococcus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. IX. 1891. p. 653. Storr's Agr. Expt. Sta. Report. 1890. p. 158.)
13) Hueppe, Ueber Milchsterilisierung und über bittere Milch mit besonderer Rücksicht auf die Kinderernährung. (Berl. klin. Wochenschr. Bd. XXVIII. 1891. p. 717—721.)
14) Bleisch, Zeitschrift f. Hyg. Bd. XII. 1893. p. 81.
15) de Freudenreich, Ann. de Micrographie. Bd. VII. 1895. p. 1.
16) O'Callaghan, New South Wales Agr. Gaz. Vol. X. 1899. p. 882.
17) Cavara, Saccharomyces Comesii. (Revue Mycologique. 1893.)
18) Grönlund, En ny Torula art og to nye Saccharomyces arter. (Vidensk. Medd. fra den Natur. Forening. Kjöbenhaven 1892.)
19) Pirotta and Riboni, Rendiconti d. R. Instituto Lombardo. 1879.
20) Duclaux, Fermentation alcoolique du sucre du lait. (Ann. de l'Inst. Past. T. I. 1887. p. 573.)
21) Adametz, Saccharomyces lactis, eine neue Milchzucker vergärende Hefeart. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. V. 1889. p. 116.)
22) Duclaux, Revue critique. (Ann. de l'Inst. Past. 1889. p. 201.)

23) Kayser, Levures alcooliques de lactose. (Ann. de l'Inst. Past. T. V. 1891. p. 395.)
24) Grotenfelt, Milch-Zeitung. 1891. p. 759.
25) Weigmann, Milch-Zeitung. 1890. p. 743.
26) Beijerinck, Arch. Néerland. Vol. XXIII. 1889. p. 428. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. 1889. p. 44.
27) Schnurmans-Steekhoven, Saccharomyces Kefir. [Diss. inaug.] Utrecht 1891.
28) de Freudenreich, Bakteriol. Untersuchungen über den Kefir. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. III. 1897. p. 47.)
29) Bochiocchio, Contribution à l'étude de la fermentation de la lactose. (Ann. de Micr. T. VI. p. 165.)
30) Jörgensen, Micro-organisms and fermentation. London 1900. p. 214.
31) Duclaux, Traité de Bactériologie. Vol. III. 1900.

Untersuchungen über die Arteinheit der Knöllchenbakterien der Leguminosen und über die landwirtschaftliche Bedeutung dieser Frage.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Halle a. S. Direktor Prof. Dr. Fränkel.]

Von Privatdocent **Dr. phil. H. Buhlert,**

Assistent am landwirtschaftl. Institut der Universität.

(Fortsetzung.)

Sobald vorher getrennte, also der Infektion ausgesetzte Teile zu verbinden waren, wurden sie zunächst durch die Flamme gezogen, oder, falls es sich um Gummischläuche handelte, in kochendes Wasser eingetaucht. Die Impfung erfolgte in der Weise, daß von dem Bakterienaufgusse je 5 ccm der Umgebung jeder einzelnen Pflanze, außerdem 10 ccm dem Boden in einer Tiefe von 10 cm zugeführt wurden. Als Schutz gegen Fremdinfektion sollte die Watte dienen, mit welcher der Boden auch während der Vegetationsperiode bedeckt blieb; natürlich mußte sie die nötigen Oeffnungen enthalten, durch welche die Pflanzen hindurch wachsen konnten.

Was die Resultate der Versuche betrifft, so sind sie von Hiltner in einer kürzlich erschienenen Arbeit[1]) sehr übersichtlich zusammengestellt. Die auf die uns hier beschäftigende Frage bezüglichen Abschnitte lasse ich wohl am zweckmäßigsten wörtlich folgen. Hiltner schreibt: „Bei den mit peinlichster Sorgfalt ausgeführten Impfversuchen stellte es sich heraus, daß die Bakterien aus den Knöllchen einer beliebigen Leguminosenart auf diese selbst in Bezug auf Schnelligkeit der Knöllchenbildung und stickstoffsammelnde Thätigkeit dieser Knöllchen am besten wirken,

1) Hiltner, Ueber die Ursachen, welche die Größe, Zahl, Stellung und Wirkung der Wurzelknöllchen der Leguminosen bedingen. (Arbeiten aus der biologischen Abteilung für Land- u. Forstwirtsch. am kais. Gesundh.-A. Bd. I. 1900. Heft 2.)

während sie auf andere Arten der gleichen Leguminosengattung oder derselben Gruppe eine meist erheblich abgeschwächte Wirkung zeigen und schließlich bei systematisch entfernt stehenden Leguminosengattungen meist vollständig versagen. Die einzelnen Arten, Gattungen und Gruppen der Leguminosen zeigen aber in dieser Beziehung wesentliche Unterschiede. So können die Bakterien in den Pisum- und Vicia-Arten einander in ihrer Wirkung fast vollständig vertreten, wenn auch hier mehr oder minder geringe Abstufungen in der Wirkung im oben genannten Sinne sich geltend machen. Auch bei anderen Gattungen der Viciaceen, als Lathyrus, Lens, erzeugten die aus Erbsenknöllchen stammenden Bakterien ausnahmslos wirksame Knöllchen. Viel weniger leicht kann eine gegenseitige Vertretung der Bakterien in Bezug auf Knöllchenbildung innerhalb der Gruppe der Trifolieen eintreten. Schon die einzelnen Trifolium-Arten zeigen untereinander in dieser Beziehung große Verschiedenheiten, und Medicago sativa sahen wir nach Impfung mit sehr wirksamen Bakterien von Trifolium pratense in einem sterilisierten Gemische von Sand und Erde vollständig knöllchenfrei bleiben. Daß selbst bei den Arten ein und derselben Gattung die gegenseitige Vertretbarkeit ihrer Bakterien eine verhältnismäßig geringe sein kann, zeigt in besonders markanter Weise Lupinus. Schon die Bakterien von Lupinus luteus und angustifolius verhalten sich sehr verschieden voneinander.“ „Sehr exklusiv verhielt sich in den meisten Fällen Robinia pseudacacia, mit der wir in Tharandt besonders viel experimentierten. Selbst die Bakterien von nahe verwandten Gattungen, wie Caragana, vermochten nur sehr spät bei Robinia Knöllchen zu erzeugen.“ „Besonders leicht kann im Gegensatz zu Robinia die Gattung Phaseolus durch Bakterien aus Knöllchen anderer Leguminosen infiziert werden. So erzeugen die Pisum-Bakterien bei Phaseolus stets Knöllchen, die allerdings in der Regel unwirksam bleiben, aber unter gewissen Umständen, namentlich in stickstofffreiem Sande, doch eine geringe Förderung der Pflanzen veranlassen können. Umgekehrt haben die Phaseolus-Bakterien in allen unseren Versuchen bei Pisum Knöllchen erzeugt, die ebenfalls unter gewissen Umständen eine geringe fördernde Wirkung auf das Wachstum der Pflanzen äußerten, während es uns andererseits bei einem Versuche nicht gelang, Robinia durch Phaseolus-Bakterien zu infizieren.“ Ueber den Versuch mit Kreuzungsbakterien sagt Hiltner: „Der schon erwähnte Umstand, daß die Erbsenbakterien bei der Bohne und umgekehrt die Bohnenbakterien bei der Erbse stets Knöllchen erzeugen, die aber meist unwirksam bleiben, veranlaßte uns, aus solchen unwirksam gebliebenen, durch Erbsenbakterien entstandenen Bohnenknöllchen die Bakterien in Reinkultur zu isolieren, um damit im nächsten Jahre wieder Erbsen- und Bohnenpflanzen infizieren zu können. Der Erfolg dieser Impfung war ein höchst interessanter! Die in Frage stehenden Bakterien, d. h. also Erbsenbakterien, die während einer Vegetationsperiode in unwirksam gebliebenen Bohnenknöllchen gelebt hatten und

während des Winters auf Leguminosengelatine weitergezüchtet worden waren, erzeugten im nächsten Jahre bei der Bohne (Phaseolus vulgaris) Knöllchen, die wirksam wurden, also die Bohne zur Stickstoffassimilation anregten, wenn auch noch nicht in dem hohen Grade, wie echte Bohnenbakterien, während sie bei der Erbse, im Vergleich zu normalen Erbsenbakterien, an Wirksamkeit erheblich eingebüßt hatten."

Die Schlußfolgerung aus den Versuchen zieht Hiltner mit folgenden Worten: „Wir haben also zu verzeichnen eine gegenseitige Unvertretbarkeit der Pisum- und Robinia-Bakterien, was bei Annahme verschiedener Arten so gedeutet werden müßte, daß eine dritte Art besteht, die bei Phaseolus sehr wirksam ist, bei Pisum aber wenig zur Geltung kommt und auf Robinia nicht übergeht. Auf letzterer Gattung käme schließlich eine andere Art vor, die andererseits wieder auf Phaseolus übergehen kann. Vergegenwärtigt man sich nun noch die Thatsache, daß sogar Robinia, wenn sie in stickstofffreiem Sande wächst, selbst durch Erbsenbakterien manchmal infiziert werden kann, und daß die Bakterien aus den Knöllchen einer bestimmten Leguminosenart gegenüber einer anderen sich nicht immer in gleicher Weise verhalten, so wird man zu der Ueberzeugung gelangen, daß die von Nobbe und mir vertretene Anschauung, nach welcher die Leguminosen-Knöllchenbakterien lediglich Anpassungsformen ein und derselben Art sind, ziemlich viel Wahrscheinlichkeit für sich hat."

Wenn ich es nun trotz dieser so zahlreichen und eingehenden Arbeiten von Nobbe und Hiltner doch unternahm, noch weitere Erhebungen in der gleichen Richtung anzustellen, so geschah das hauptsächlich deswegen, weil mir die von den beiden ebengenannten Forschern getroffene Versuchsanordnung in einem wesentlichen Punkte immerhin noch einer Verbesserung fähig und bedürftig erschien.

Bei derartigen Experimenten nämlich ist es meines Erachtens nicht nur erforderlich, Reinkulturen sowie sterilisierte Gefäße, Boden, Samen u. s. w. zu verwenden, sondern es müssen auch die Pflanzen bezw. der Boden auf das sorgfältigste vor einer Fremdinfektion geschützt und der exakte Nachweis erbracht werden, daß dies wirklich erreicht ist. In letzterer Beziehung ist jedoch das Verfahren von Nobbe und Hiltner nicht als einwandfrei zu bezeichnen. Die beiden Forscher belegten, wie ich oben anführte, den Boden in den Gefäßen mit einer sterilen Watteschicht. Eine solche Decke ist nun an und für sich keineswegs bakteriendicht, und am wenigsten, wenn, wie hier, eine Durchfeuchtung derselben nicht zu vermeiden ist; außerdem mußte sie ja auch, um den Pflanzen Raum zu geben, sogar an mehreren Stellen von vornherein durchbrochen werden. Es war also mehr als genügend Gelegenheit vorhanden, daß Mikroorganismen aller Art eindringen konnten. Allerdings kam es ja hier nur darauf an, Bakterien anderer Leguminosen fernzuhalten; und es ist zuzugeben, daß die Wahrscheinlichkeit der Einwanderung gerade solcher Fremdlinge nicht sehr groß war, immerhin lag die Möglichkeit vor, daß sie aus

den in der Nähe befindlichen anderen geimpften Gefäßen auf irgend eine Weise verschleppt wurden. Den Nachweis, daß dies nicht geschehen sei, suchten Nobbe und Hiltner aus dem Verhalten der ungeimpften Kontrollpflanzen zu führen. Blieben diese frei von Knöllchen, so galten die Versuche als einwandfrei, dagegen im umgekehrten Falle natürlich als verfehlt. Aber dieser Beweis ist nur ein indirekter; es ist gar nicht ausgeschlossen, daß wenn auch die Kontrollpflanzen keine Knöllchen haben, die geimpften Gefäße trotzdem verunreinigt sind. Unbedingte Sicherheit, daß, falls Knöllchen gebildet, diese thatsächlich auch durch die zu prüfenden Bakterien hervorgerufen sind, wird man vielmehr erst dann haben, wenn nach Beendigung der Beobachtungen gezeigt werden kann, daß in den beschickten Gefäßen keine anderen als die künstlich eingebrachten Bakterien vorhanden sind. Mit anderen Worten besagt also diese Forderung, daß die Versuche während ihrer ganzen Dauer vor jeder Fremdinfektion geschützt werden müssen.

Dieses Ziel war es, welches ich bei meinen Versuchen zu erreichen trachtete, und hierin unterscheiden sich also die von mir angestellten Experimente nicht unwesentlich von denen Nobbe's und Hiltner's. Im allgemeinen war der Plan für meine Erhebungen folgender: Als zu prüfende Bakterien wählte ich solche aus den Knöllchen von Pisum sativum, Vicia Faba, Phaseolus vulgaris und Acacia speciosa, als zu prüfende Pflanzen Pisum sativum und Vicia Faba. Ich infizierte nun jede Pflanze einmal mit Bakterien ihrer eigenen Art, dann mit Bakterien, deren Wirtspflanze einer anderen Art bezw. Gattung, aber derselben Gruppe, der der Viciaceen, weiter mit Bakterien, deren Wirtspflanze einer anderen Gruppe, der der Phaseoleen, und schließlich mit solchen, deren Wirtspflanze einer anderen Unterfamilie der Leguminosen, der der Mimosaceen, angehörte. Wenn ein Unterschied in der Wirkung der Bakterien verschiedenen Ursprungs bestand, mußte er sich voraussichtlich bei dieser Anordnung am ehesten geltend machen. Natürlich wurde das Experiment mit jeder Pflanze doppelt ausgeführt und es ergaben sich demnach 16 einzelne Versuche.

Die Impfung sollte nicht überall in gleicher Weise erfolgen; die eine Hälfte der Erbsen und ebenso der Bohnen sollte nur eine einmalige Impfung mit einer Bakterienaufschwemmung, die andere eine mehrmalige und außerdem eine Samenimpfung erhalten. Die Dauer der Versuche war auf mindestens 5—6 Wochen vorgesehen; die Frist sehr viel länger auszudehnen, erschien nicht erforderlich, da man wohl annehmen darf, daß diejenigen Bakterien, welche in dieser Zeit keine Knöllchenbildung hervorgerufen haben, auch später unwirksam bleiben werden. Vor allen Dingen war eine zeitliche Beschränkung aber deswegen geboten, weil die weiter unten zu beschreibenden Kulturgefäße eine beliebig lange Vegetationsdauer nicht gestatteten. Aus diesem Grunde erschien es auch ausgeschlossen, festzustellen, ob resp. welche Wirksamkeit die gebildeten Knöllchen auf das Wachstum und den Ertrag der Pflanzen ausübten. Eine solche Prüfung lag freilich auch gar nicht

in meiner Absicht, für mich handelte es sich lediglich darum, in einwandfreier Weise zu ermitteln, ob Bakterien in die Wurzeln einer bestimmten Leguminose einzudringen und Knöllchen zu bilden vermögen, welche aus einer im natürlichen System mehr oder weniger entfernt stehenden Leguminosenart stammen. Da die Pflanzen unter Ausschluß aller sonstigen Mikroorganismen kultiviert werden sollten, durfte natürlich nur keimfreier Boden, sowie ebensolcher Samen zur Verwendung gelangen. Ferner mußte nach Beendigung der Versuche konstatiert werden, ob es gelungen sei, jede Fremdinfektion zu vermeiden. Es sollte dies dadurch geschehen, daß von dem Boden jeden Gefäßes kleine Mengen mit der Platinöse entnommen und in Fleischwasserpeptonbouillon übertragen wurden; blieben die geimpften Röhrchen klar, so konnte angenommen werden, daß das angestrebte Ziel erreicht war. Denn wenn eine Infektion stattgefunden, waren wahrscheinlich mehrere Bakterienarten beteiligt und unter ihnen sicherlich auch solche, welche in Bouillon gediehen. Zwar wurden mit den betreffenden Bodenproben dann auch Leguminosenbakterien in die Bouillon geimpft; durch verschiedene Vorversuche hatte ich mich aber davon überzeugt, daß diese absolut nicht in der genannten Nährlösung wuchsen. Späterhin habe ich allerdings konstatieren müssen, daß das nicht unter allen Umständen und für alle Fälle zutrifft, ein Punkt, der an anderem Orte des näheren zu erörtern sein wird.

Ehe ich nun die Vorbereitung zu meinen Versuchen eingehender schildere, will ich noch einiger von anderen Seiten unternommener Versuche Erwähnung thun, bei denen auch das Ziel verfolgt wurde, Pflanzen, vor Fremdinfektion geschützt, zu kultivieren. Als Erster beschäftigte sich wohl Prazmowski[1]) mit einer solchen Aufgabe. Dieser Forscher wollte die Hellriegelschen Resultate in einwandfreier Weise nachprüfen; zu dem Zwecke schien es ihm ausreichend, wenn er nur die Wurzeln seiner Pflanzen gegen eine Infektion sicherte. Seine Kulturgefäße bestanden daher aus 2 Teilen, dem unteren, dem eigentlichen Vegetationsgefäße und dem auf das letztere gut passenden Deckel. In diesem befanden sich 3 Oeffnungen, eine mittlere war zur Einführung des Samens bestimmt, in die übrigen mündeten Glasröhren, welche zur Zu- bezw. Ableitung der Luft und des Wassers dienten. Die Luft wurde, nachdem sie ein zur einen Hälfte mit Chlorcalciumstückchen, zur anderen Hälfte mit Watte gefülltes U-Rohr passiert hatte, mittels Wasserdrucks in das Kulturgefäß hinein und durch den Boden hindurch gepreßt. Das Wasser floß aus einem erhöht stehenden Kolben nach, die Verbindung mit dem Kulturgefäße war durch Glasröhren und Gummischläuche hergestellt. Vor dem Gebrauche fand natürlich ein Aufkochen statt, und im übrigen wurden selbstverständlich alle Vorsichtsmaßregeln getroffen, um eine Verunreinigung zu verhüten. Als Bodenmaterial verwendete Prazmowski einen chemisch gereinigten, grobkörnigen

1) Prazmowski, Die Wurzelknöllchen der Erbse. (Landwirtschaftl. Versuchsstat. 1890.)

Flußsand. Nachdem dieser zuerst in eisernen Kesseln geglüht war, wurde er in die Töpfe gefüllt und mit diesen 48—60 Stunden zwecks Sterilisierung in einem Trockenschranke gehalten. Da es aber nicht ausgeschlossen war, daß trotz aller Vorkehrungsmaßregeln Keime in das Innere der Gefäße gedrungen waren, wurde die Nährlösung nach der Verbindung der einzelnen Teile des Apparates im Kolben nochmals aufgekocht, und das erste Mal der Sand mit dieser heißen Nährlösung begossen; dann folgte endlich die Aussaat der durch Behandlung mit 2-proz. Sublimat und absolutem Alkohol sterilisierten Samen; zu dem Zwecke wurde die außer einer Watteschicht über der mittleren Oeffnung noch befindliche Glaskappe ein wenig in die Höhe gehoben, der Samen in die Oeffnung eingeführt und mit einer Pincette in den feuchten Sand gedrückt, wonach die Kappe wieder aufgesetzt ward. Sobald die Plumula über dem Rande der mittleren Oeffnung erschien, wurde der Wattemantel über der Glaskappe zerrissen, um den Pflanzen von Anfang an das nötige Licht zu sichern. Etwa 3 Tage später, nachdem die Pflanze 3—4 cm über den mittleren Rand der Oeffnung hinausgewachsen war, wurde der endgiltige Verschluß des Kulturtopfes durch Verstopfen der besagten Oeffnung mit sterilisierter Watte hergestellt. Auf diese und um das Pflänzchen wurde schließlich noch ein Stückchen Wachsleinwand und darauf ein Stückchen Stanniol mit einem Ausschnitte in der Mitte befestigt.

Obwohl Prazmowski bei der Vorbereitung und Durchführung seiner Versuche die größte Sorgfalt anwendete, gelang es ihm in der ersten Versuchsreihe bei keinem der Töpfe, die Fremdinfektion auszuschließen. Prazmowski macht für dieses Resultat die Vaseline verantwortlich, welche er noch auf das oben erwähnte Stückchen Stanniol an den basalen Teil der Pflanzen gebracht hatte. Durch dieselbe waren allmählich die Epidermis und die unter dieser liegenden Rindenzellen zum Absterben gebracht, es hatten sich hier Bakterien, Amöben und Schimmelpilze angesiedelt und schließlich waren sie auch nach unten in den Boden vorgedrungen. Bei der 2. Reihe, in welcher die Vaseline nicht zur Anwendung kam, ließ sich bei 3 Gefäßen jede Fremdinfektion vermeiden, während die anderen beiden Töpfe durch Schimmelpilze verunreinigt waren.

Weiter beschäftigte sich dann Stoklasa[1]) mit der in Rede stehenden Aufgabe. Sein Kulturgefäß war eine Flasche nach Art eines großen Erlenmeyer'schen Kolbens. Verschlossen wurde sie durch einen Kautschukstopfen (so ist wenigstens aus der Abbildung zu entnehmen), durch den nach entgegengesetzten Seiten 2 Glasröhren führten; von diesen mündete die eine direkt in einen mit Schwefelsäure gefüllten Kugelapparat, vor dem sich ein Trockenturm mit steriler Watte befand; zwischen der anderen und dem Kugelapparate war noch ein kleiner Kolben mit Wasser eingeschaltet. Mit Hilfe eines Aspirators konnte durch das Kultur-

1) Stoklasa, Biologische Studien über Alinit. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. IV. 1898.)

gefäß sowohl Luft hindurchgesaugt als auch aus dem kleinen Kolben Wasser zugefügt werden. Im Gegensatze zu Prazmowski's Versuchsanordnung waren hier die Pflanzen während der ganzen Dauer der Vegetationszeit in den Kulturgefäßen eingeschlossen.

Gelegentlich anderer Versuche [1]) modifizierte Stoklasa seinen Apparat in verschiedenen Punkten. So gab er der Flasche eine bedeutendere Größe und zugleich eine andere, die gewöhnliche Cylinderform, ferner schnitt er sie ungefähr in der Höhe, welche der eingefüllte Boden erreichte, in 2 Teile, damit das Legen der Samen leichter und bequemer erfolgen konnte. Die übrigen Aenderungen sind unwesentlicher Natur, nur hinsichtlich der Wasserzufuhr ist noch zu bemerken, daß sie dieses Mal nicht mit Hilfe des Aspirators, sondern direkt aus einem höher stehenden Gefäße vor sich ging. Die zuerst geschilderten Apparate benutzte Stoklasa zu Vegetationsversuchen mit Gerste, die letzteren zu solchen mit Brassica oleracea [2]); nach Abschluß derselben konstatierte er bei der bakteriologischen Prüfung niemals andere als die hineingeimpften, bezw. bei der letzten Beobachtungsreihe in den ungeimpften Töpfen überhaupt keine Mikroorganismen. Die Apparate scheinen also ihren Zweck vollständig erfüllt zu haben. Trotzdem konnte ich mich nicht entschließen, sie auch bei meinen eigenen Experimenten zu verwenden. Zahlreiche Erfahrungen hatten mir gezeigt, wie unendlich schwer es ist, auch bei einfachster Anordnung der Versuche das Eindringen fremder Keime zu verhindern. Stoklasa brachte bei seinen ersten Versuchen in einem einzigen Gefäße 98—100 Gerstepflanzen unter; wenn man nun auch noch annimmt, daß alle diese Samen frei von Keimen gewesen sind [eine Sterilisierung gerade des Gerstenkorns gelingt, wie ich mich überzeugt habe, seines Baues wegen nur selten, wie auch Schulze [3]) bestätigt], sollten dann nicht die Gefäße doch während des Legens dieser Menge von Samen infiziert worden sein? Stoklasa muß doch entweder seine Apparate 98—100mal geöffnet und wieder geschlossen oder sie überhaupt so lange offen gehalten haben, bis alle Samen eingebracht waren. Weiter wird sich auch bei der Verwendung der vielen Glasröhren, Stopfen u. s. w. ein bakteriendichter Verschluß kaum haben herstellen lassen. Wenn demgegenüber Stoklasa behauptet, die bakteriologische Untersuchung der Proben habe allein die Anwesenheit des Bacillus megatherium ergeben, mit dem sämtliche Gefäße infiziert waren, so haben diese Worte an sich gar keine Beweiskraft. Erfahren wir doch nichts darüber, wie denn die bakteriologische Prüfung geschehen ist, und wenn man z. B. nur annimmt, daß Stoklasa mit einer aus den Kulturgefäßen herrührenden Bodenprobe Gelatineplatten gegossen hat, so werden diese negativen Resultate sofort erklärlich. Denn bekanntlich verflüssigt Bacillus megatherium diesen Nährboden

---

1) Zeitschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. III. 1900.

2) Nach einer Berichtigung im Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. VII. 1901 war die Versuchspflanze Brassica oleifera.

3) Schulze, Beiträge zur Alinitfrage. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1901. Heft 3.)

ziemlich schnell und energisch und überwuchert deshalb, wenn er, wie hier, in der Ueberzahl vorhanden ist, sehr leicht die übrigen etwa noch anwesenden Bakterien.

Anders liegen die Dinge freilich bei dem zweiten Versuche. Hier waren einige Gefäße überhaupt ohne jede Impfung geblieben, und deshalb war jede Methode genau genug, um eine eventuelle Verunreinigung erkennen zu lassen, — in diesem Falle erwähnt Stoklasa, daß er Gelatine- und Agarplatten verwendet habe —. Wenn Stoklasa also behauptet, diese Gefäße seien steril geblieben, so wird man ihm glauben müssen, obwohl die von mir geltend gemachten Bedenken gerade hier insofern noch gewichtiger sind wie oben, als noch eine weitere Eingangspforte für die Bakterien durch die Zweiteilung der Flasche geschaffen war.

Das Mißtrauen, das ich gegen die Stoklasa'schen Apparate hegte, wurde dann noch bestärkt durch die Resultate, welche Schulze[1]) bei seinen Versuchen gewann. Es würde zu weit führen, wollte ich auch von diesen eine genauere Schilderung geben, und es mag schon der Hinweis genügen, daß Schulze wie Prazmowski die Pflanzen nur bis zur Basis in einem keimfreien Medium hielt und daß auch er Einrichtungen für Wasser- und Luftzufuhr traf. Aus der ganzen Darstellung von Schulze geht hervor, daß er mit der größten Sorgfalt bei der Zusammensetzung der Gefäße wie bei der Durchführung der Versuche vorging; trotzdem gelang es ihm zunächst ebenfalls nicht, auch nur eins seiner Gefäße steril zu erhalten. Er bemerkt: „Nur in 2 Töpfen erwies sich der Boden als frei von Schimmel, beide Töpfe enthielten aber dafür mehrere fremde Bakterienformen. Alle übrigen 34 Töpfe enthielten Schimmelpilze, darunter wieder 14 nur Schimmel, also daneben keine fremden Bakterienformen; 5 weitere enthielten neben dem Schimmel noch je 1 und 15 je 2 oder mehrere Bakterienarten als Infektion.“ In der zweiten Versuchsreihe hatte Schulze einen etwas besseren Erfolg zu verzeichnen, da es ihm unter 10 Gefäßen gelungen war, 2 vor Infektion zu schützen; die übrigen wiesen jedoch alle Verunreinigungen auf und zwar entweder nur Schimmel oder nur Bakterien, oder sowohl Schimmel als auch Bakterien.

Erwähnt muß schließlich noch werden, daß auch von Lauck[2]) ein bakterienfreier Vegetationsapparat angegeben ist, den der Verf. jedoch nur beschreibt, dagegen überhaupt nicht in Benutzung genommen zu haben scheint.

Aus den vorzugsweise negativen Resultaten von Prazmowski und Schulze zog ich nun für meine Zwecke die Lehre, daß es richtig sei, die Versuchsgefäße wie die ganze Versuchsanordnung möglichst einfach zu gestalten, und ich habe deshalb sowohl von einer Vorkehrung zur Durchlüftung des Bodens wie von einer Wasserzuführung während des Wachstums der Pflanzen gänzlich abgesehen. Dank dieser Beschränkung konnte ich nicht nur den Boden und die Wurzeln, sondern auch die oberirdischen Teile der

---

1) a. a. O.

2) Lauck, Bakterienfreier Vegetationsapparat. (Centralblatt f. Bakt. II. Abt. 1898.)

Pflanzen vor dem Eindringen unberufener Keime schützen, indem ich die ganze Pflanze vom Beginne der Keimung bis zur Beendigung der Beobachtungen unter Verschluß hielt. Nachdem ich anfangs zu zahlreichen Vorversuchen Bechergläser als Kulturgefäße benutzt hatte, mit denen es jedoch niemals gelang, die Pflanzen bezw. den Boden keimfrei zu erhalten, ging ich zur Verwendung einfacher Flaschen aus weißem Glase über, die eigens für mich angefertigt und im Hinblick auf die spätere Sterilisierung aus gutem, gleichmäßigem Glase hergestellt, sowie mit besonderer Sorgfalt gekühlt wurden. Sie waren bis zum Halsansatz 35 cm hoch und 11,5 cm weit. Der Hals saß ziemlich ohne Uebergang auf dem bauchigen Teil und war nur 5 cm hoch und 2,5 cm weit; so war einerseits kein allzu großer Wattebausch für den Verschluß nötig, und andererseits doch das Einführen des Samens, das Impfen und die Reihe der sonstigen Manipulationen ohne Unbequemlichkeiten möglich.

Als Material zum Füllen der Gefäße verwendete ich Tertiärsand, der zunächst längere Zeit in dem Ofen einer Thonwarenfabrik einer Hitze von 1200 ° C ausgesetzt worden war. Das Wasser wurde durch dreistündiges Kochen sterilisiert, während bei den Düngemitteln (0,592 g Superphosphat, 0,665 g Kainit, 1 g Schlämmkreide pro 1 kg Sand, entsprechend 56 kg P_2O_5, 90 kg K_2O, 600 kg $CaCO_3$ pro ha) vorläufig eine Sterilisierung unterblieb. Abgewogene Mengen derselben wurden vielmehr in kleinen sterilen Erlenmeyer'schen Kölbchen gelöst bezw. aufgeschwemmt und dann in einer Schale mit dem Boden gemischt. Nachdem schließlich noch so viel Wasser hinzugefügt war, daß 70 Proz. der wasserfassenden Kraft erreicht waren, wurde der Boden in die inzwischen leer an zwei aufeinander folgenden Tagen sterilisierten Flaschen gefüllt, und zwar kam soviel Boden zur Verwendung, daß er in der Flasche bis zu einer Höhe von 10 cm reichte, dem Gewichte nach war hierzu etwas über 1 kg erforderlich. Die so beschickten Gefäße wurden dann an 5 Tagen nacheinander je 2 Stunden im Dampfapparat sterilisiert. Nach dieser Zeit übertrug ich kleine Proben des Bodens in Bouillon und sah darauf in keinem der geimpften Röhrchen selbst nach Ablauf mehrerer Wochen eine Trübung eintreten, sodaß die Sterilisierung als gelungen bezeichnet werden konnte.

Die Sterilisation der Samen geschah in der Weise, daß sie in 0,2-proz. Sublimat etwa 5 Minuten lang mit einer kleinen Bürste behandelt wurden, bis ich sicher war, daß das letzte Luftbläschen entfernt, die Benetzung also eine vollkommene war. Darauf tauchte ich sie in absoluten Alkohol und brannte diesen schließlich ab. Bei einem Vorversuch waren von je 20 Erbsen- und Bohnensamen, welche auf die beschriebene Art behandelt waren, je 10 eingekeimt, je 10 in Bouillonröhrchen gebracht worden. Die eingekeimten Erbsen hatten nach Verlauf von 3 Tagen alle die Wurzel geschoben, von den Bohnen blieben 2 aus. Nach einigen Tagen zeigten verschiedene unter den Bouillonröhrchen einen Niederschlag, der jedoch von vornherein nicht den Eindruck machte,

als ob er durch das Wachstum von Bakterien hervorgerufen sei, da er besonders großflockig erschien. Um mich indessen hiervon genauer zu überzeugen, impfte ich aus den betreffenden Bouillonröhrchen auf Fleischagar und sah nur auf einem einzigen dieser letzteren Röhrchen Wachstum auftreten. Die Methode befriedigte also nach beiden Richtungen, sie ermöglichte eine genügende Sterilisation der Samen, ohne doch die Keimkraft in erheblichem Maße zu schädigen. Wie sich nach einiger Zeit herausstellte, war der großflockige Niederschlag dadurch entstanden, daß die Bouillon auf die Samen lösend wirkte und schließlich einige unter ihnen völlig bersten machte. Dieser schädigende Einfluß der Bouillon nötigte mich auch, von einer Prüfung der Samen auf ihre Sterilität durch Uebertragung in Fleischbrühe vor ihrem Auslegen in die Gefäße durchaus abzusehen, hatte ich mich doch auch schon früher überzeugen müssen, daß die Keimung solcher Samen, welche einige Tage in Bouillon gelegen hatten, mit bedeutender Verzögerung erfolgte oder gar ganz ausblieb.

Was die benutzten Reinkulturen betrifft, so gewann ich die Vicia Faba-Bakterien aus den Knöllchen von Bohnen, welche ich im Winter 1901 in Töpfen gezogen hatte. Zur Füllung dieser letzteren nahm ich jungfräulichen Boden aus dem Untergrunde eines nährstoffarmen diluvialen Ackers, infiziert mit einer geringen Menge von Boden aus den vorjährigen Bohnenparzellen des hiesigen landwirtschaftlichen Instituts. Die Knöllchen wurden mit Leitungs-, dann mit sterilem Wasser abgewaschen, darauf in absolutem Alkohol abgespült, und letzterer durch Abbrennen entfernt. Dann zerquetschte ich die Knöllchen zwischen sterilen Glasplatten und überzeugte mich durch das Bild im hängenden Tropfen und im gefärbten Präparat von dem Vorhandensein der typischen Stäbchen und Bakteroiden. Zur Züchtung benutzte ich vorwiegend Asparagin + Traubenzucker-Nährböden (0,4 Proz. Asp., 1 Proz. Trbz.), deren sich auch schon in ähnlicher Zusammensetzung teils mit teils ohne Zusatz von Leguminosen-Dekokt Beijerinck und Prazmowski bedient haben; und zwar impfte ich von dem aus den Knöllchen austretenden Saft Asparagin + Traubenzucker-Agarröhrchen und legte gleichzeitig auf Asparagin + Traubenzucker-Agarplatten Striche an. Sobald Wachstum eingetreten, was in der Regel in 4—6 Tagen der Fall war, goß ich mit einer kleinen Menge Material Asparagin + Traubenzucker-Gelatineplatten und impfte endlich von gut isoliert liegenden typischen Kolonieen auf Asparagin + Traubenzucker-Agarröhrchen. Daß die Bakterien in Reinkulturen vorhanden waren, wurde durch die Untersuchung der mit Material aus den letzten Röhrchen nochmals angefertigten Gelatineplatten festgestellt.

Auch die Erbse, aus deren Knöllchen ich die Reinkulturen anlegte, hatte ich in Töpfen gezogen, die natürlich statt mit Bohnenerde mit Erbsenerde geimpft waren.

Die Phaseolus-Bakterien stammten aus den Knöllchen einer Pflanze, die in den Frühbeeten des landwirtschaftlichen Instituts gewachsen war.

Die Knöllchen der Acacia speciosa endlich erhielt ich durch die Güte eines Herrn, welcher die genannte Pflanze schon seit mehreren Jahren als Zimmerpflanze kultiviert.

Mit der Isolierung der Bohnenbakterien wurde Mitte April 1901 begonnen, mit der der Acacia-Bakterien am 23. Mai, mit den Phaseolus-Bakterien am 10. Juni und mit denen der Erbse endlich Anfang August. Alle Stämme wurden bis zu ihrer Verwendung des öfteren auf Asparagin + Traubenzucker-Agar bezw. Gelatine weiter verimpft. Die Bakterienaufschwemmung bereitete ich in der Weise, daß ich von dem Rasen einer Asparagin + Traubenzucker-Gelatinekultur so viel in 3 ccm steriles Wasser verimpfte, bis die Lösung ein milchig-trübes Aussehen annahm. Zum Abmessen der erforderlichen Impfmengen hatte ich mir Pipetten aus engen, der Höhe der Gefäße entsprechend langen Glasröhren angefertigt, die vor dem Gebrauch mit siedendem Wasser außen und innen gereinigt, darauf jede einzeln in eine weitere Glasröhre eingeschlossen und an zwei aufeinanderfolgenden Tagen 2 Stunden in strömendem Dampf erhitzt wurden.

Um die Samen mit den betreffenden Bakterien zu infizieren, ließ ich sie nach vorheriger Sterilisierung auf dem Rasen eines schrägen Gelatineröhrchens hin- und hergleiten, bis sie ganz von der Bakterienmasse eingehüllt waren. Die hierzu sowie zur Bereitung der Aufschwemmung benutzten Kulturen waren in den meisten Fällen erst 4, in einigen wenigen 6—7 Tage alt.

Die Ausführung der eigentlichen Versuche konnte, da namentlich die vorbereitenden Ermittelungen betreffs der zur Verhütung der Fremdinfektion anzuwendenden Maßregeln den größten Teil des Sommers in Anspruch nahmen, erst gegen Ende desselben erfolgen. Aus äußeren Gründen war es ferner nicht möglich, sämliche 16 Kulturgefäße zu gleicher Zeit zu sterilisieren, und es mußte deshalb zunächst mit der einen Hälfte der Experimente begonnen werden.

Am 27. August wurden die Gefäße No. 1—4, nachdem sie in der oben beschriebenen Weise vorbehandelt waren, mit Erbsen bepflanzt, und zwar die letzteren unmittelbar nach der Sterilisierung in die nur für diesen Moment geöffneten Gefäße geworfen. Zur größeren Sicherheit lies ich noch während dieser Manipulation über die Oeffnung des Flaschenhalses die Flamme eines Bunsenbrenners halten. Natürlich wurde der Wattebausch sowohl vor seiner Entfernung als auch vor dem Wiederaufsetzen gehörig abgebrannt. Die Erde in den Gefäßen war durch Schütteln etwas gelockert, so daß die Erbsen auf weichen Boden fielen und mit demselben durch Hin- und Herneigen der Flasche bedeckt werden konnten.

Die Gefäße 5—8 wurden an demselben Tage in ganz der gleichen Weise mit sterilisierten Bohnen beschickt.

Bei der zweiten Hälfte der Versuche sollten, wie erwähnt, die Samen vorher eine Impfung erhalten. Im übrigen geschah das Bepflanzen aber in der gleichen Weise, wie bei der ersten Reihe,

nur daß natürlich die geöffneten Gefäße nicht durch die Flamme des Bunsenbrenners geschützt werden konnten.

Ueber die Verteilung der Pflanzen auf die einzelnen Gefäße, ferner über die Zeit der Bepflanzung, sowie endlich über die Zeit und Art der Impfung giebt die folgende Tabelle genauere Auskunft. Zu bemerken ist noch, daß ich mich mit der ersten und einzigen Impfung der Gefäße 1—8 nach dem Erscheinen des Graskeimes richtete und sie ausführte, wenn dieser etwa 1 cm lang war. Bei der zweiten Reihe, die ja eine Samenimpfung bekommen hatte, beabsichtigte ich ursprünglich die weiteren Impfungen in Abständen von ungefähr 14 Tagen vorzunehmen. Unvorhergesehene Störungen, wie z. B. ungleichmäßiges Wachstum der Pflanzen, nicht genügende Entwickelung der Reinkulturen, veranlaßten jedoch einzelne Abweichungen von diesem Plane. Die betreffenden Aufschwemmungen wurden natürlich möglichst in die Nähe der Pflanzen gebracht, und selbstverständlich auch hier alle Manipulationen mit den nötigen Vorsichtsmaßregeln ausgeführt.

No. der Gefäße	Name der Pflanze	Die Bakterien stammen aus den Knöllchen von	Die Aussaat erfolgte	Die Impfung des Samens erfolgte	1 ccm Bakterienaufschwemmung	2 ccm Bakterienaufschwemmung	Bemerkungen
1.	Erbse	Pis. sat.	27. 8.	—	—	—	Eingegangen
2.	„	Vicia Faba	„	—	5. 9.	—	—
3.	„	Phas. vulg.	„	—	5. 9.	—	—
4.	„	Ac. spec.	„	—	6. 9.	—	—
5.	Bohne	Vicia Faba	„	—	5. 9.	—	—
6.	„	Pis. sat.	„	—	6. 9.	—	—
7.	„	Phas. vulg.	„	—	5. 9.	—	—
8.	„	Ac. spec.	„	—	10. 9.	—	—
9.	Erbse	Pis. sat.	2. 9.	2. 9.	24. 9.	2. 10.	—
10.	„	Vicia Faba	„	„	—	—	Eingegangen
11.	„	Phas. vulg.	„	„	18. 9.	2. 10.	—
12.	„	Ac. spec.	„	„	„	—	—
13.	Bohne	Vicia Faba	„	„	„	7. 10.	—
14.	„	Pis. sat.	„	„	„	„	—
15.	„	Phas. vulg.	„	„	„	„	—
16.	„	Ac. spec.	„	„	„	„	—

Nach dem Bepflanzen hielt ich alle Gefäße mehrere Tage in einem mäßig warmen Zimmer, und zwar bis die Samen zu keimen begannen, an möglichst dunkler Stelle, sobald jedoch der Graskeim durchgebrochen war, an einem Fenster, das während des größten Teiles des Tages direktes Sonnenlicht empfing.

Am 12. September brachte ich alle Gefäße, mit Ausnahme von No. 9 und 12, in denen die Erbsen im Wachstum etwas zurückgeblieben waren, aus dem hygienischen Institut, in welchem bis dahin die Vorbereitungen stattgefunden hatten, in das Gewächshaus des landwirtschaftlichen Instituts. Obwohl sie hier schon sehr luftig standen und beinahe völlig dem Wechsel der Außentemperatur unterworfen waren, wurden sie doch an jedem

Tage, wenn es das Wetter nicht gerade verbot, auf dem Wagen, auf welchem sie ihren Platz hatten, ins Freie gefahren. Vor dem Transport aus dem Zimmer in das Gewächshaus stülpte ich über die Gefäße resp. über den Hals derselben Bechergläser, einmal um eine Berührung des Wattebausches von seiten des Transportierenden zu verhindern, hauptsächlich aber deshalb, weil so, wenn die Gefäße im Freien standen und unverhofft ein Regen einfiel, eine Durchnässung des Wattebausches nicht statthaben konnte. Auch im übrigen wird dadurch wohl die Infektionsgefahr verringert sein, da als Eingangspforte für fremde Keime ja nur der Wattebausch in Betracht kommen konnte, dieser aber nun durch das Becherglas in vorzüglicher Weise geschützt war.

Indessen zeigten sich trotz aller dieser Vorsichtsmaßregeln doch auf 2 Erbsen, No. 1 und 10, schon ungefähr 8 Tage nach dem Legen des Samens Pilzwucherungen. Erbse No. 1 erreichte nur eine Länge von ca. $2^1/_2$—3 cm; hier hatte sich der Schmarotzer von dem Samenkorn aus über die ganze Pflanze verbreitet und sie zum Absterben gebracht. Der Erbse No. 10 war zwar deutlich eine Schwächung anzusehen, jedoch blieb sie bis zum 18. Oktober, an welchem Tage das Gefäß zwecks Untersuchung des Pilzes geöffnet wurde, am Leben. Ihre Länge betrug damals 33 cm. Die vier untersten Blätter waren vollständig vertrocknet, das 5. und 6. Blatt hatten eine mehr oder weniger gelbliche Farbe, nur die übrigen vier an der Spitze sitzenden waren noch grün. Der Rest des Samens erwies sich ebenfalls als von Hyphen durchsetzt, der Stengel war jedoch nur an der Basis angegriffen, ebenso das Hypocotyl nur in geringer Ausdehnung. In beiden Fällen war der Schmarotzer derselbe Pilz, nämlich Ascochyta. Da sich nun in der Litteratur die Angabe[1]) findet, daß die Sporen dieses Pilzes von reifenden Erbsensamen eingeschlossen, und zwar so fest umhüllt werden können, daß sie einerseits dem Sterilisieren entgehen, andererseits erst nach dem Keimen des Samens in Freiheit gelangen, so glaube ich annehmen zu dürfen, daß auch bei meinen Versuchen dieser Fall vorliegt und nicht etwa, daß die äußere Sterilisierung des Samens eine ungenügende gewesen, oder daß eine Fremdinfektion erfolgt sei. Obwohl ich damit also das Vorkommen von Pilzsporen innerhalb des Samenkorns zugebe, möchte ich es im Gegensatz zu Naudin und anderen Autoren nicht für denkbar halten, daß sich auch Bakterien und speziell Leguminosenbakterien im Inneren derselben finden. Denn auch den Fall angenommen, daß sie durch irgend welche äußeren Umstände auf die Hülse gelangen, so werden sie doch wohl schwer oder überhaupt nicht durch diese und in den Samen einzudringen imstande sein.

Anders liegen die Dinge bei Ascochyta. Es ist sehr wohl möglich, daß dieser Pilz, der sich wie auf der ganzen Pflanze, so

1) Krüger, Fr., Ungewöhnliches Auftreten von Ascochyta pisi Lib. in Erbsenpflanzen. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. I. 1895.)
Hiltner, Ueber die durch Ascochyta pisi Lib. hervorgerufene Wurzelkrankheit der Erbse. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. I. 1895.)

auch auf der Hülse ansiedelt, seine Hyphen und Fruchtträger durch dieselben hindurch und in die noch nicht ausgereiften, daher weichen Samen senden kann.

Eine Schädigung der übrigen Pflanzen trat nach keiner Richtung ein. Ich lasse über das Wachstum derselben und gleichzeitig über den Befund beim Oeffnen der Gefäße ein kurzes Protokoll folgen.

Vorausgeschickt sei, daß ich während der Vegetationszeit zur Feststellung der Höhe der Pflanzen außen an die Flaschen einen Centimeterstab hielt und nun die Anzahl der Centimeter schätzte, welche der Länge der Pflanzen gleichkamen. Als Fußpunkt wählte ich natürlich das Niveau des Bodens in den Gefäßen, als Endpunkt die Spitze des Stengels. Die zuweilen etwas abweichenden Maße, nachdem die Versuche abgebrochen waren, erklären sich dadurch, daß ich jetzt vom Samenkorn bis zur Spitze des äußersten Blattes maß. In schwarzes Papier gehüllt habe ich die Gefäße in ihrem unteren Teil, soweit sie mit Boden gefüllt waren, natürlich deshalb, um die Einwirkung der Sonnenstrahlen auf den Boden von der Seite her auszuschließen.

Erbse No. 1 vakat.

Erbse No. 2 (Faba-Bakterien)

27. 8. gepflanzt. 4. 9. Graskeim sichtbar. 9. 9. 2—2$^1/_2$ cm lang. 16. 9. Sieht kräftig und gesund aus. 19. 9. ca. 13 cm lang. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 17 cm lang. 2. 10. Die beiden untersten Blätter gelblich. 7. 10. Bis zum vierten Blattansatz gelblich. 10. 10. Gefäß geöffnet. Erbse 25 cm lang. Die untersten Blätter vertrocknet. Das 3. und 4. Blatt etwas gelblich. Knöllchen, und zwar sieben, allerdings sehr klein, einige nur von Stecknadelkopfgröße, einige doppelt so groß, alle an den Wurzeln zweiter Ordnung. Im hängenden Tropfen außer kleineren und größeren Stäbchen vereinzelte Gebilde, die Bakteroiden ähnlich. Im gefärbten Präparate jedoch nur Bakterien wahrzunehmen. Viele Stäbchen allerdings ungefärbte Stellen.

Erbse No. 3 (Phas.-Bakterien)

27. 8. gepflanzt. 5. 9. Graskeim sichtbar. 9. 9. Ungefähr 1 cm lang. 16. 9. Wie Erbse No. 2. 19. 9. ca. 11 cm lang. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 17 cm. 7. 10. 24 cm, untersten beiden Blätter gelb. 14. 10. 25 cm, 3. und 4. Blatt etwas gelb. 21. 10. 27 cm, 5. und 6. Blatt fangen an etwas gelb zu werden. 28. 10. Gefäß geöffnet. Erbse 27 cm lang. Die fünf untersten Blätter vollkommen trocken, das 6. ziemlich, das 7. etwas gelb. An zwei Wurzeln 2. Ordnung ziemlich an der Spitze kleine Verdickungen. Diese sind als Knöllchen anzusehen, denn ein Präparat, das durch Zerquetschen einer solchen Verdickung zwischen 2 Objektträgern und durch nachheriges Färben mit Karbolfuchsin hergestellt wurde, zeigte große Mengen von Bakterien. Bakteroiden waren auch hier nicht zu erkennen, in vielen Stäbchen jedoch ungefärbte Stellen.

Erbse No. 4 (Ac.-Bakterien)

27. 8. gepflanzt. 5. 9. Graskeim sichtbar. 9. 9. 1 cm lang. 16. 9. Wie Erbse No. 2. 19. 9. ca. 15 cm lang. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 20 cm, unterstes Blatt vertrocknet, das dritte etwas gelblich. 4. 10. Gefäß geöffnet. Erbse 27 cm lang. Keine Knöllchen.

Bohne No. 5. (Faba-Bakterien)

27. 8. gepflanzt. 5. 9. Graskeim heraus. 9. 9. 2 cm. 16. 9. Sieht kräftig und gesund aus. 19. 9. 12 cm. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 13 cm. 7. 10. 14 cm. 15. 10. Läßt die oberen Blätter hängen. 17. 10. Desgleichen. 21. 10. 16 cm. 9. 11. Gefäß geöffnet. Bohne 18 cm lang, sah sehr gesund und kräftig aus. Einige wenige Wurzeln 2. Ordnung jedoch waren in mehr oder minder großer Ausdehnung geschwärzt. 30 Knöllchen von verschiedener Größe, die kleinsten makroskopisch eben sichtbar, die größten einem Senfkorn vergleichbar, Bakteroiden.

Bohne No. 6 (Pis.-Bakterien)

27. 8. gepflanzt. 5. 9. Graskeim sichtbar. 9. 9. 2 cm. 16. 9. Wie Bohne No. 5. 19. 9. 11 cm. 20. 9. In schwarzes Papier eingehüllt. 27. 9. 14 cm. 7. 10. 16 cm, läßt die Blätter hängen, eines der unteren Blätter zeigt einen schwarzen Fleck. 14. 10. 18 cm. Das Blatt mit dem schwarzen Fleck, der jetzt fast die ganze Spreite einnimmt, ist abgefallen. 21. 10. 18 cm, ein zweites, schwarzes Blatt abgefallen, ein drittes wird schwarz. 22. 10. Gefäß geöffnet. Bohne 19,5 cm lang. Alle Wurzeln vollkommen geschwärzt. Keine Knöllchen.

Bohne No. 7 (Phas.-Bakterien)

27. 8. gepflanzt. 5. 9. Graskeim sichtbar. 9. 9. Etwas größer als No. 5. 16. 9. Immer noch weiter als No. 5, aber nicht so große und kräftige Blätter. 19. 9. 12 cm. 20. 9. In schwarzes Papier eingehüllt. 27. 9. 15 cm. 7. 10. 18 cm. 21. 10. 20 cm. 4. 11. Gefäß geöffnet. Pflanze 22 cm lang. Alle Blätter frisch und grün. Einige Nebenwurzeln hatten die bräunlich schwarze Färbung. Keine Knöllchen.

Bohne No. 8 (Ac.-Bakterien)

27. 8. gepflanzt. 10. 9. Graskeim heraus. 16. 9. Wie Bohne No. 5. 19. 9. 7 cm lang. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 9 cm. 7. 10. 10 cm. 14. 10. 12 cm. An einem der untersten Blätter wird die Spitze etwas gelblich. 15. 10. Läßt die oberen Blätter hängen. 21. 10. 13 cm. Eins der unteren Blätter schwarz, ein weiteres einen schwarzen Fleck. 24. 10. Gefäß geöffnet. Bohne 14,5 cm lang. Ein geschwärztes Blatt abgefallen, ein weiteres mit einem schwarzen Fleck fiel beim Herausnehmen ab. Die Hauptwurzel, sowie 2—3 Nebenwurzeln verfärbt. Keine Knöllchen.

(Schluß folgt.)

Infektionsversuche mit Uredineen der Weisstanne.

[Vorläufige Mitteilung.]

Von Prof. Dr. Freih. v. **Tubeuf**, München.

Seitdem Hartig den Nachweis führte, daß das Aecidium columnare der Tanne zu Calyptospora Goeppertiana auf der Preißelbeere gehört, vergingen lange Jahre, bis neue Infektionsversuche mit den anderen Tannen-Uredineen Erfolg brachten. Zunächst fand Klebahn die Zusammengehörigkeit des Pucciniastrum Epilobii auf Epilobium angustifolium mit einem zweiten Tannen-Aecidium, welches dem erstgenannten Aecidium columnare ziemlich gleicht. Er nennt diesen Pilz Pucciniastrum Abieti-Chamaenerii, da Epilobien einer anderen Sektion wie Chamaenerion nicht infiziert wurden.

Ich habe in diesem Sommer mit dem Tannen-Aecidium aus einem Walde, wo die Calyptospora und überhaupt die Preißelbeere fehlt und wo alljährlich Epilobium angustifolium auch mit Pucciniastrum besetzt ist, die Infektion auf Epilobium angustifolium und die hier fehlende Dodonei mit bestem Erfolge ausgeführt. Damit erhält die Berechtigung des Klebahn'schen Namens eine weitere Stütze. Zugleich vorgenommene Infektion auf Epilobium hirsutum und parviflorum hatten keinen Erfolg. Gleichzeitig mit diesen Aecidien, die auch gemeinsam im selben Waldorte vorkommen, reift auch Caeoma Abietis pectinatae. Mit demselben führte ich erfolgreich Infektionsversuche auf Salix Capraea aus, welche auch die Uredo- und Teleutosporen des Caeoma Laricis trägt.

Am betreffenden Platze, wo sehr viel Tannen-Caeoma vorkommt, ist der Weidenpilz massenhaft vorhanden. Er ist nach Klebahn's Vorgehen nunmehr Melampsora Abieti-Capraearum zu nennen.

Mit dem Hexenbesen-Aecidium der Tanne erzielte Fischer Infektionserfolg auf Stellaria nemorum, während mir die Infektion auf Stellaria media und später auch auf Stellaria nemorum, ferner auf Cerastium semidecandrum glückte.

In diesem Sommer mit nur einem, im Walde schon sorgfältig in eine Blechbüchse verpackten Hexenbesen ausgeführte Infektionen ergaben Erfolg auf Stellaria media, die im allgemeinen auch wegen ihrer weiteren Verbreitung häufiger der Träger dieses Pilzes sein dürfte, wie St. nemorum. Letztere wurden in diesem Jahre einige Tage später infiziert.

München, den 22. Juli 1902.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Nachdruck verboten.

Royal Society, London.

February 20, 1902.

On pure cultures of a Uredine, Puccinia dispersa (Eriks).

By **H. Marshall Ward**, F.R.S.

With 2 figures.

(Schluß.)

Experiments with mineral supplies.

The question arose during some of the tube-experiments. Do infection and incubation occur normally if the host-plant is suffering from a lack of any particular ingredient in the soil — e. g., one of the essential minerals? To answer this, I prepared tube-cultures as before — as in experiments Nos. 711 and 713, &c. — substituting for the normal nutritive solution, in some of the tubes, the same solution minus calcium, or minus potassium, or magnesium or phosphoric acid, respectively, with the results shown, in the following table V. The only positive result was with spores from B. mollis, which infected B. mollis in spite of the lack Mg salts. In other cases flecks only were developed.

This experiment cannot be regarded as very decisive, but it at least shows that infection can occur when Mg is lacking, though the incubation period (13 days) was somewhat long. As the pot-cultures show, no positive results were to be expected with B. maximus infected from B. mollis.

Table V. — Large tube-cultures of seedlings, germinated on damp filter-paper for six days, and then placed with their roots in mineral solutions, and infected two days later.

Expt. No.	Species	Origin of spores	Nutritive solution	Result	Period of incubation	Duration of experiment	Remarks
714	B. mollis	B. mollis	Water only	—		21 days	A yellow fleck
714	„ „	„ „	Normal Detmer*	—		21 „	* Plant lost
714	„ „	„ „	Minus Ca	—		21 „	A fleck
714	„ „	„ „	„ K	—		21 „	Flecks
714	„ „	„ „	„ Mg	+	21 days	21 „	
714	„ „	„ „	„ P_2O_5	—		21 „	
714	B. maximus	„ „	Water only	—		21 „	No infection anywhere visible
714	„ „	„ „	Normal Detmer	—		21 „	
714	„ „	„ „	Minus Ca	—		21 „	
714	„ „	„ „	„ K	—		21 „	
714	„ „	„ „	„ Mg	—		21 „	
714	„ „	„ „	„ P_2O_5	—		21 „	

Table VI. — Exactly as 715, but seedlings ten days old and already exhausting their reserves.

721 &	B. arvensis	B. mollis	Normal Detmer	—		21 days	
722	„ „	„ „	Minus Ca	—		21 „	
722	„ „	„ „	„ K	+?	11 days?	21 „	{ Fleck only, or at most bearing a few spores
722	„ „	„ „	„ Mg	—		21 „	
722	„ „	„ „	„ P_2O_5	—		21 „	
722	B. velutinus	„ „	Normal Detmer	+	11 „	21 „	
722	„ „	„ „	Minus Ca	+	10 „	21 „	
722	„ „	„ „	„ K	+	11 „	21 „	
722	„ „	„ „	„ Mg	+	11 „	21 „	
722	„ „	„ „	„ P_2O_5	+	10 „		

The following experiment (table VI) seems at first sight very suggestive in its definite results, but much more work will be needed before we can generalise widely. Five tubes with bulbs below were charged with a seedling each of B. arvensis and five with B. velutinus, one of each five tubes having normal Detmer's solution, one the same minus K, Ca, &c., respectively. The seedlings were 10 days old, grown antiseptically on moist filter paper, and therefore exhausting the reserves, and would probably come at once under the full influence of the mineral solutions.

Each seedling was infected forthwith with spores from B. mollis, tested, and found to be not very vigorous in germination. Since all were infected alike, however, on the first leaf and from the same batch of spores, I think we must regard the results as fairly comparable.

As the table shows, every plant of B. velutinus had spore-bearing pustules in 10—11 days, whereas the B. arvensis gave no signs, if we except one doubtful pustule on the 11th day in the tube devoid of potassium.

It seems necessary to conclude from this series that B. arvensis is far less easily infected than B. velutinus under any conditions of mineral supply afforded. The experiment also shows that in the case of a susceptible plant such as B. velutinus, no appreciable effect is produced by the mineral supply in the short time (10—11 days) occupied in incubation. Something may turn out to be due to the differences in size of the seeds, however.

Meanwhile I had made some experiments on seedlings started in pots of coir-fibre, under conditions more nearly approaching the normal than, perhaps, the tubes afford, to see if the influence of mineral supplies, or lack of such, at the roots affects the questions before us.

Seeds of four species of Brome were sown in pots of coco-fibre (coir) thoroughly steamed in a steriliser. The seedlings — all except B. asper — came up satisfactorily, but did not form strong plants eventually. As the following table VII shows, infection failed in all cases, in spite of the fact that the seedlings were given a double dose of spores. It is difficult to explain the negative results with B. mollis. The temptation is to conclude that the host-plant, being starved of mineral supplies, gave the

infecting germ-tube no chance to establish itself, but I think much more work must be done before this is established.

Table VII. — Seedlings sown in coco-fibre on May 24. Infected May 29, and re-infected May 30, in each case in tip-drops. Water only used to keep the coir damp.

Experiment No.	Date of infection	Host	Origin of spores	No. of plants	No. inoculated	Results July 8	Results July 11	Results July 15	Remarks
702 (1)	May 29	B. inermis	B. mollis	25	10	0	0	0	
702 (2)	„ 29	„ „	„ „	25	10	0	0	0	
702 (3)	„ 29	„ mollis	„ „	25	10	0	0	0	
702 (4)	„ 29	„ „	„ „	25	10	0	0	0	
702 (5)	„ 29	„ sterilis	„ „	25	10	0	0	0	
702 (6)	„ 29	„ „	„ „	25	10	0	0	0	
702 (7)	„ 29	„ asper	„ „	25	10				Did not come up
702 (8)	„ 29	„ „	„ „	25	10				

The following experiments, however, yielded results which seem to show that the nature or amount of the mineral supply may after all be not without effect.

Small pots were packed with washed coco-nut fibre and sterilis ed by steam, and "seeds" of B. mollis sown in twelve of them. Germination was started at 27° C in the artificial greenhouse and the pots then placed in a well lighted, ordinary greenhouse and watered as follows: — Two with Detmer's normal solution, and two each with the same minus K, Ca, Mg, and P_2O_5 respectively, while two were kept as controls watered with distilled water.

On the 5th day the spears were up and the first leaf unfolding, and one pot of each pair mentioned infected with spores from B. mollis. The parallel set were similarly infected, with spores from B. mollis, two days later, a different crop of spores being used.

After four days' incubation under wet beakers — in the case of the first six pots — and two days — in the case of the second six — all were put out side by side in a sunny place under a large bell-jar. Two days later the bell-jar was removed. The pots were placed well apart, each in its own saucer, land equal carefully measured doses of the minerals given at intervals.

The seedlings grew admirably at first, but began to show the effects of the mineral deficiency in a few days. Meanwhile the incubation period was being completed. The results appear in table VIII. The were, however, very marked points of difference between the appearances in this series 716 and those seen in perfectly normal plants — e.g., series 735—736 and 738.

(See table VIII page 245.)

In the first place, none of the pustules or disease-flecks were very large or well developed. They were, curiously enough, best on the seedlings provided with water only. Next best on those with normal mineral solution, and on those with the same devoid

Table VIII. Seedlings in sterilised pots of coco-fibre, saturated with mineral culture solutions, and infected after 5—7 days, in Greenhouse.

Expt. No.	Date of sowing	Host	Origin of spores	Nutritive solution	Date of infection	Result	Period of incubation	Duration of experiment	Remarks
716 a	June 17	B. mollis	B. mollis	Water only	June 22	+	10 days	24 days	Excellent plants and pustules
716 b	„ 17	„ „	„ „	Normal Detmer	„ 22	+	11 „	24 „	Rather pale, but good pustules
716 c	„ 17	„ „	„ „	Minus Ca	„ 22	+	12 „	24 „	Fair plants; pustules small
716 d	„ 17	„ „	„ „	„ K	„ 22	+	12 „	24 „	Some leaves shrivelled; pustules few and small
716 e	„ 17	„ „	„ „	„ Mg	„ 22	+	13 „	24 „	Good plants and pustules
716 f	„ 17	„ „	„ „	„ P_2O_5	„ 22	+	13 „	24 „	Plants elongated and pale; only one minute and poor pustule
716 g	„ 17	„ „	„ „	Water only	„ 24	+	12 „	22 „	Fair plants; one pustule; several flecks
716 h	„ 17	„ „	„ „	Normal Detmer	„ 24	+	12 „	22 „	Fairly normal plants and pustules.
716 i	„ 17	„ „	„ „	Minus Ca	„ 24	+	„ „	22 „	Pustules small; some leaves shrivelled
716 k	„ 17	„ „	„ „	„ K	„ 24	—		22 „	Much shrivelled; no pustules
716 l	„ 17	„ „	„ „	„ Mg	„ 24	—		22 „	Pale and with shrivelled tracts
716 m	„ 17	„ „	„ „	„ P_2O_5	„ 24	—		22 „	Pale, drawn, and shrivelling

of Ca, and (another curious fact) in one case on the plants deprived of Mg. On those deprived of P_2O_5 or of K the development was distinctly worse.

These results also accord with the appearance of the plants themselves. The want of P_2O_5 results in a long limp growth, and very pale colour, and the attacked spots show corrosion and collapse instead of normal flecks.

Similarly, in plants deprived of K we have pale collapsing patches in place of normal flecks, though the plant is not drawn and etiolated as in the previous case. Where Mg was wanting the drawing and paleness of the leaves were not so marked, and the fungus flecks in the positive case were more like the normal.

That a want of supplied Ca should have very little effect on either host or parasite, was no doubt due to there being small

quantities available in the soil and pots. The flecks and pustules were apparently normal, though small.

It is not easy to see why the pots with water only yielded plants with flecks as good as, or even better than those with normal solution, unless the concentration of the salts affects the fungus. However it is probably not to be inferred that in any of these cultures the grass was totally deprived of the given salt — it would get traces from the pots and coir in any case — but the effects of deprivation of salts ought certainly to be felt, and I think were so to some extent in lengthening the incubation period.

So far as the results go they suggest that differences in the supply of minerals affects the development of mycelium and of spores owing to effect on the host — in cultivating the host we also cultivate the parasite.

But I would insist that these trials with special mineral-supplies are merely preliminary. The task in hand was far too extensive for the problems to be solved in one season, and I contemplate carrying the whole matter — or persuading some one to do so — much farther in the future. Meanwhile, the results give suggestions for further work, and much remains to be done along the lines I have here laid, down as well as in directions yet to be opened out.

Referate.

Boni, J., Ricerche sulla capsula dei bacteri. (Giornale della R. Società Italiana d'Igiene. Vol. XXIII. 1901. p. 417.)

Durch eine besondere Präparierungsmethode (Fixierung in einer glyceroalbuminösen Lösung, Färbung mit konzentriertem Ziehl'schen Fuchsin, Spülung mit Wasser, Nachfärbung mit Loeffler'schem Methylen) konnte Verf. eine Kapsel bei verschiedenen künstlich kultivierten Bakterien sichtbar machen. Es kann daher die Kapsel nicht als Charakteristikum von nur einigen Bakterienarten betrachtet werden. Verf. hat beobachtet, daß die Bildung der Kapsel dem Anfange des körnigen Zerfalles der bakterischen Zelle entspricht, so daß er sie als eine Aeußerung der bakteriolytischen Wirkung der baktericiden Flüssigkeiten hält.

Gorini (Mailand).

Grassberger, R. und **Schattenfroh, A.,** Ueber Buttersäuregärung. II. Abhandlung. A. Zur Morphologie des beweglichen Buttersäurebacillus. B. Biologisches Verhalten und Verbreitung des beweglichen Buttersäurebacillus. (Archiv f. Hyg. Bd. XLII. 1902. Heft 3. p. 219—264.)

Zuckervergärende, anaërobe Buttersäurebacillen sind in der Natur außerordentlich verbreitet, und so ließen die umfangreichen

Zersetzungen und deren charakteristische Produkte weiterhin gewisse sehr auffallende Veränderungen der Bakterienzelle während der Sporenbildung von vornherein das Auffinden und die Bestimmung von anaëroben Buttersäurebacillen nicht sonderlich schwierig erscheinen. Späterhin stellte sich jedoch heraus, daß dies keineswegs immer so leicht erfolgen kann, wie man bisweilen annahm: Einmal sind die Zersetzungen der zuckerhaltigen Nährmedien durch die erwähnten Organismen, selbst bei Vorhandensein ein und derselben Art durchaus nicht immer gleichartig und laufen auch keineswegs im Sinne einer voraus bestimmten Gleichung ab; weiterhin besteht die an der Buttersäuregärung der Kohlehydrate beteiligte Bakterienflora anscheinend aus einer kleinen Anzahl verschiedener wohlcharakterisierten Arten; alsdann wird auch diese Sichtung der Bakterienflora durch den Umstand sehr erschwert, daß infolge weitgehender Vielgestaltigkeit der Formen wie auch der kulturellen Erscheinungen ein und derselben Art — wie sie gerade bei den Buttersäurebacillen angetroffen wird — man sehr leicht Gefahr läuft, natürlich Verwandtes zu trennen und wiederum dort mehrere Arten aufzustellen, wo es sich in der That nur um verschiedene Erscheinungsformen handelt. Eine erfolgreiche Sichtung kann daher nur auf reichhaltiges Material, auf Untersuchungen, die neben den kulturell morphologischen auch die chemisch-biologischen Eigenschaften der Buttersäurebacillen eingehend berücksichtigen, gegründet sein.

In früheren Mitteilungen (s. d. Archiv. Bd. XXXVII) haben die Verff. schon ausführlich von einem unbeweglichen Buttersäurebacillus berichtet, den sie Granulobacillus saccharb. immob. liquefaciens (unbeweglicher Buttersäurebacillus) genannt haben. Seine Stellung im System konnte jedoch erst durch eingehende Studien erschlossen worden.

An diese Bakterienart reiht sich ein längst bekanntes Stäbchen an, das von Gruber im Jahre 1887 zuerst in Reinkultur gezüchtet und beschrieben und späterhin besonders von Beijerinck, dann auch von v. Klecki u. A. studiert wurde. Diese Art nannte Gruber „Amylobacter“, Beijerinck „Granulobacter saccharobutyricum“ und v. Klecki, „Bacillus saccharobutyricus“.

Die Verff. haben umfangreiche vergleichende Untersuchungen angestellt, und zwar einmal mit den Stämmen dieser Autoren und dann auch mit einer größeren Anzahl von Buttersäurebacillen, die von den Verff. selbst aus verschiedenen Materialien gezüchtet worden sind und im Verlaufe der Untersuchungen als einer Art angehörig erkannt wurden.

Auf gewöhnlicher Gelatine ohne Zuckergehalt konnte der bewegliche Buttersäurebacillus des Typus „Amylobacter“ nicht zum Wachstum gebracht werden. Hingegen sind für ihn ausgezeichnete Nährböden Gelatine mit Traubenzucker- oder Rohrzuckerzusatz, ebenso Zuckeragar.

Auch ist das Verhalten des beweglichen Buttersäurebacillus

auf Zuckergelatine insofern ein bemerkenswertes, als auf diesem Nährboden je nach den besonderen Umständen ein sehr verschiedenes Wachstum bezw. Aussehen der Vegetation zu beobachten ist. Auch kommt dieselbe sowohl im Zuckergelatinestich als auch in Zuckergelatineplatten in dreierlei Typen zur Entwickelung: (1) kugelig, knopfförmige Vegetation, 2) centrale Vegetation mit stacheligen, fadenförmigen Ausläufern, 3) Vegetation mit eigentümlicher Veränderung der Gelatine unter Durchsetzung mit Gasblasen, aber ohne jede Spur von Verflüssigung). Die Verff. besprechen alsdann die Bedingungen, unter denen eventuell der eine oder andere Typus auftritt. Weiterhin wird auch eingehender die Sporenbildung etc. erörtert. Auffallende Unterschiede zwischen den Kolonieen des beweglichen und jenen des unbeweglichen Buttersäurebacillus ergeben sich in dem Aussehen der Oberflächenkolonieen auf Zuckeragar.

Ferner ist die Gasbildung im Zuckeragar überhaupt gewöhnlich reichlicher beim beweglichen als beim unbeweglichen Buttersäurebacillus. Auf Kartoffeln treten keine Unterschiede im Wachstum der einzelnen Stämme zu Tage. Auffallende Differenzen sind vor allem bezüglich ihrer Neigung zur Versporung zu konstatieren gewesen, obwohl diesen Differenzen kein allzu großes Gewicht beizumessen ist, da je nach den obwaltenden Bedingungen gerade in dieser Hinsicht größere Schwankungen eintreten können. Der bewegliche Buttersäurebacillus ist ein streng anaërober Organismus und zeigt immer Eigenbewegung. Es wird alsdann weiterhin ausführlicher über sein sonstiges biologisches Verhalten, insbesondere auch über die mannigfachen Zersetzungen berichtet, die durch seine Gärthätigkeit in den Kulturflüssigkeiten hervorgerufen werden. Es werden zunächst bezüglich seiner Entwickelung die ziemlich weiten Temperaturgrenzen hervorgehoben; an die Zusammensetzung der Nährböden stellt er gewisse Anforderungen (organische, N-haltige Substanzen, Bevorzugung von Eiweißstoffen; lösliche, vergärbare Kohlehydrate sind unerläßlich), so daß er durchaus nicht in allen gebräuchlichen Nährmedien wächst. Er ist ein echter Gärungserreger (Mono- und Disaccharide werden vergoren, ebenso Stärke, nicht aber Cellulose; auch Glycerin wird außerordentlich leicht zersetzt und zwar viel leichter als von dem stammverwandten unbeweglichen Organismus). Als Gärprodukte wurden außer Dextrose, Saccharose und Laktose, sowie aus Stärke und Glycerin regelmäßig aufgefunden: Buttersäure, Milchsäure, Kohlensäure und Wasserstoff. Alkohole — sonst von anderer Seite als konstantes Nebenprodukt aufgefunden — wurden nur 1mal in größerer Menge bei der Analyse festgestellt. Ein konstantes Mengenverhältnis der gebildeten Gärprodukte konnte nicht nachgewiesen werden. Bei den einzelnen Rassen des beweglichen Buttersäurebacillus wurde von einigen inaktive, von anderen hingegen Rechtsmilchsäure produziert. Verf. glauben dies Verhalten lediglich als Stammeseigentümlichkeit ansehen zu dürfen. Labenzyme wurden nicht festgestellt, wie zu erwarten war, wohl aber konnten dia-

statische Enzyme in den Kulturen nachgewiesen werden. Gleichwohl erfolgt eine Gerinnung des Kaseïns in Milchkulturen, und zwar durch Säurewirkung. Selbst bei Kreidekulturen geht diese Gerinnung vor sich, da sich die durch die Sterilisierung zusammengeballte Kreide nur allmählich mit den entstandenen Säuren umsetzt. Schließlich wird von den Verff. noch die eventuelle Giftigkeit und Pathogenität und ferner die Verbreitung des beweglichen Buttersäurebacillus erörtert.

Nach den Untersuchungen der Verff. bestehen zwar manche Beziehungen, die den beweglichen mit dem unbeweglichen Buttersäurebacillus verbinden; es sind aber genügend Unterschiede vorhanden, die die Aufstellung einer eigenen Art rechtfertigen und geboten erscheinen lassen. Für den Fernerstehenden sind schon leicht kenntliche Verschiedenheiten in der vorhandenen bezw. fehlenden Beweglichkeit in der Peptonisierung der Gelatine oder dem Mangel einer solchen, in dem anderen Aussehen der Kolonieen u. s. w. gegeben. Für den mehr Eingeweihten ist jedoch vor allem der Gesamtcharakter der dieser Gruppe zugehörenden Bakterien maßgebend und entscheidend, welcher sich unter den wechselnden biologischen Bedingungen stets unverkennbar ausprägt. Manche für charakteristisch gehaltene Eigenschaft der „unbeweglichen“ Art kann bisweilen verloren gehen, eine fehlende Fähigkeit zeitweise auch erworben werden, ohne daß die Zugehörigkeit zum Typus auch nur im geringsten dadurch zweifelhaft würde. Einzelheiten wollen die Verff. in einer späteren Abhandlung berichten; ebenso soll späterhin von den Uebergangsformen zwischen „beweglichen“ und „unbeweglichen“ Buttersäurebacillen die Rede sein. Heinze (Halle a. S.).

Epstein, Stanislaus, Untersuchungen über die Reifung von Weichkäsen. (Archiv für Hygiene. Bd. XLIII. 1902. p. 1—20.)

In jüngster Zeit hat bekanntlich v. Freudenreich weitere Mitteilungen über die Reifung von Hartkäsen gemacht, aus denen wohl in unzweideutiger Weise hervorgeht, daß die Milchsäurefermente den Hauptanteil an dem Reifungsvorgange haben und daß also die Bildung der die Reifung der Hartkäse charakterisierenden Zersetzungsprodukte hauptsächlich der Thätigkeit jener Fermente zugeschrieben werden muß (cf. Bakt. Centralbl. II. Abt. 1902. Heft 21—23). Allerdings läßt v. Freudenreich noch die Frage offen, inwieweit ein verflüssigender Micrococcus, der freilich auch eine Milchsäurebakterie ist, aber mit einem bedeutenden Auflösungsvermögen des Kaseïns ausgestattet ist, an dem Reifungsprozesse beteiligt ist. Etwas abweichend scheinen die Verhältnisse bei den Weichkäsen auch insofern zu liegen, als bei deren Reifung im Gegensatze zu den Hartkäsen die Arten der Milchsäurebakterien eine außerordentliche Rolle spielen.

Verf. hat nun spezielle Untersuchungen über die Reifung

der Weichkäse angestellt, die fast gleichzeitig mit den jüngsten Mitteilungen von v. Freudenreich bekannt gegeben worden sind.

Aus den mannigfachen Versuchen geht hervor, daß sich in sämtlichen Käsen konstant zwei Organismen, ein peptonisierendes Kurzstäbchen und ein Milchsäure-bildender Coccus vorfanden. Ihre Eigenschaften werden genauer verfolgt und im möglichsten Einklange mit den Forderungen der Praxis streng wissenschaftliche Versuche über Käsereifung mit denselben angestellt. Die Käse, welche mit beiden Arten zugleich geimpft waren, zeigten schon, als die Reifungsschicht erst 3—5 cm stark war, den charakteristischen Geruch und Geschmack eines erstklassigen Camembert-Käses. Nach dem Verf. ist deshalb zur Herstellung eines Weichkäses das Zusammenwirken von zwei Bakterienarten unerläßlich, indem im Innern des Käses die Milchsäurebakterien eine vorbereitende Wirkung ausüben, während die für die Weichkäse charakteristische Reifung von der Oberfläche ausgeht, von den oben erwähnten peptonisierenden Stäbchenbakterien eingeleitet wird, und nach dem Innern zu schichtweise fortschreitet. Heinze (Halle a. S.).

Hahn, M., Ueber die Reduktionswirkungen der Hefe und des Hefepreßsaftes, sowie der Bakterien. (Letztere mit Dr. **Calhcart.**) [Gesellschaft für Morphologie und Physiologie in München. Sitzung vom 3. Dez. 1901.] (Münchener med. Wochenschrift. 1902. No. 14.)

Es ist bisher stets unentschieden geblieben, ob die Reduktionswirkung, welche die Bakterien zeigen, von den Bakterien selbst oder von den durch sie gebildeten Stoffwechselprodukten ausginge; in der letzten Zeit neigte man mehr dazu, die Reduktion auf vitale Prozesse der Bakterien selbst zu beziehen. Es zeigte sich bei den Hahn'schen Versuchen mit Sicherheit, daß die reduzierende Wirkung an die Leibessubstanz der Bakterien gebunden ist, da mehrfach gewaschener Preßhefesaft die reduzierende Wirkung zeigte und 10 ccm des Saftes 0,14 g Methylenblau entfärbten, Durch Toluolzusatz geht die Reduktionswirkung des Saftes in kürzester Zeit verloren, ebenso bei Aufbewahrung im Eisschrank. Ebenso geht durch Erhitzen bei 55—60° der größte Teil des Reduktionsvermögens verloren, doch läßt sich daraus wohl kein bindender Schluß ziehen, da bei dieser Temperatur Bakterienleiber und zum Teil auch Stoffwechselprodukte vernichtet werden, wenn auch mit großer Wahrscheinlichkeit die Bakterienleiber stärker alteriert werden. Als optimale Temperatur für die Reduktion ergab sich 40° C. Es ist von Interesse, daß die Gärwirkung der Reduktionskraft nahezu parallel ging, derart, daß z. B. Preßhefe, die im Vakuum eingedickt und getrocknet aufbewahrt worden war, mit der Gärwirkung auch ihre Reduktionskraft eingebüßt hatte. Beide Aeußerungen der Bakterienlebensthätigkeit beruhen wahrscheinlich auf der Wirkung enzymartiger Körper, welche in der Leibessubstanz der Zellen eingeschlossen, unter Umständen an die Umgebung abgegeben werden. Als der beste Indikator für diese Reduktions-

wirkungen erwies sich Methylenblau. Bei den Bakterien ist, wie schon bekannt, die Reduktionskraft nach der betreffenden Species verschieden; die Reduktionswirkung geht jedoch auch der Zahl der Bakterien parallel, was in dieser Exaktheit bisher noch nicht ausgesprochen war. Anaërobe Arten reduzieren stärker als aërobe, ebenso bei fakultativen Anaërobien die anaërob gezüchteten. Eiweißstoffe begünstigen die Reduktion; die Einwirkung des Lichtes ist ohne jeden nachweisbaren Einfluß auf Intensität und Dauer der Reduktion. Die Reduktionsfähigkeit ist nicht an das Leben der Bakterien gebunden, doch wird sie durch Zusatz von Desinficientien und Antisepticis aufgehoben oder wesentlich vermindert. Die Konkurrenz des atmosphärischen Sauerstoffs, welcher die von den Bakterien gebildeten Leukoprodukte zu verkeipen = oxydieren sucht, haben die Autoren nicht ausgeschlossen, weil die Reaktionszeit außerordentlich kurz war und zwischen 1 Minute und 30 Minuten lag. A. Wolff (Königsberg i. Pr.).

Golding, J., Sugar as an agent in nitrogen fixation and an aid to the growth of plants. (Journal of the Society of chemical industry. Vol. XVIII. 1899. No. 6.)

— Sugar as an aid to the growth of plants. (Journal of the Soc. of chem. ind. Bd. XIX. 1900. No. 4.)

Verf. hat Versuche darüber angestellt, ob die Assimilation freien Stickstoffes durch die Knöllchenbakterien der Leguminosen vermittelst Zusatz von Zucker zu dem Boden gefördert werde. Veranlaßt wurden diese Untersuchungen vor allem durch die Mitteilungen Winogradsky's, der gelegentlich der Isolierung seines Clostridium Pasteurianum und der Versuche mit diesem Mikroorganismus die Beobachtung machte, daß die Assimilation freien atmosphärischen Stickstoffs mit der Zerstörung des im Nährboden vorhandenen Zuckers durch das Clostridium Hand in Hand ging, daß also die Stickstoffbindung durch das gleichzeitige Vorhandensein von Kohlehydraten gewissermaßen bedingt sei.

Golding füllte zur Ausführung seiner Versuche Blumentöpfe mit Quarzsand, setzte stickstofffreien Dünger hinzu, brachte die Samen verschiedener Leguminosenarten hinein, impfte die einzelnen Töpfe mit Aufschwemmungen von zerquetschten Knöllchen der betreffenden Art und fügte schließlich der einen Reihe dieser Versuchstöpfe 5 g, einer zweiten 10 g Rohrzucker in Lösung zu, während zur Kontrolle immer 2 andere Töpfe der gleichen Art ohne Zuckerzusatz blieben. Bemerkt sei noch, daß alles zu diesen Versuchen benutzte Material, Töpfe, Sand, Samen, Instrumente etc. vorher sorgfältig und ausgiebig sterilisiert wurde. Es ergab sich so, daß in den Töpfen mit Zuckerzusatz ein erheblich stärkeres und besseres Wachstum der einzelnen Arten stattfand als in denen ohne diese Beigabe. Ein deutlicher Unterschied zwischen den Töpfen mit 5 und denen mit 10 g Rohrzucker war nicht zu konstatieren.

Die zweite Veröffentlichung des Verf.'s enthält einmal eine

Wiederholung der eben kurz wiedergegebenen Versuche, die im nächsten Jahre etwa in derselben Weise und Anordnung mit dem gleichen Resultate vorgenommen wurde. Weiter hat Golding aber noch Untersuchungen angestellt über den Wert des Zuckerzusatzes für Leguminosen, denen Stickstoff in reichlicher Menge in gebundener Form zur Verfügung stand, die also des Luftstickstoffes nicht bedurften, und endlich noch die Wirkung des Zuckers auf dieselben Pflanzen studiert, wenn sie an akutem Stickstoffhunger litten. Auch in allen diesen Fällen konnte der Verf. eine deutliche, günstige und fördernde Wirkung durch den Zuckerzusatz beobachten, und zwar ergab sich kein Unterschied im Nutzen, ob die Pflanzen ihren Stickstoff aus der Luft oder vom Boden bezogen. Schließlich hat Verf. noch feststellen können, daß große Mengen Zucker nicht fördernd, sondern infolge seines starken Reduktionsvermögens schädigend, ja tötend auf die Pflanzen einwirken. Jacobitz (Halle a. S.).

Strenzel, Verwertung der Abwässer. (Blätter f. Rübenbau. Bd. IX. 1902. p. 113.)

Es wird auf die bekannte Möglichkeit einer Verwertung der Abwässer als Düngemittel hingewiesen und zugleich auf dieselben als ein Mittel zur Nematodenbekämpfung aufmerksam gemacht. Die Wichtigkeit dieser Aussichten wird alsdann des näheren erörtert. Heinze (Halle a. S.).

Reutty, X., Der Kork als Verschlußmaterial mit besonderer Berücksichtigung seiner Permeabilität für Mikroben. [Aus dem bakt. Laboratorium des eidgen. Polytechnikum in Zürich.] (Inaug.-Diss.) Zürich 1900.

Ein sorgfältiger Verschluß mit tadellosem Materiale von Kork spielt ganz allgemein bei der Weinbereitung, wie auch bei Mineralwässern, Sirupen, Pflanzensäften, Früchten, ferner bei Chemikalien, Droguen, Fleischextrakten u. s. w. eine überaus wichtige Rolle, zumal man möglicherweise mit einer mehr oder weniger starken Beeinflussung des Flascheninhaltes etc. durch den Bakterien- und Schimmelpilzgehalt des Korkes bezw. mit einer später erfolgenden Infektion von außen, also einem Durchwachsen des Korkes rechnen muß. Ob alsdann der abscheuliche Stopfengeschmak bei Weinen, Mineralwässern etc. Organismenwirkungen als Ursache hat oder ob er vorwiegend auf Korkbestandteile, wie Huminsäuren, Gerbstoffe u. a. und deren Zersetzungsprodukte zurückgeführt werden muß, ist gegenwärtig noch ziemlich unklar.

Verf. weist in seiner Arbeit zunächst auf den Bakterien- und Schimmelpilzgehalt des Korkes als Verschlußmittel hin, über welchen auffallenderweise nur wenige Angaben in der Litteratur sich vorfinden. Unter anderen sucht er vor allem die Durchlässigkeit von Flaschenkorken für Mikroben zu ergründen. Die Zusammensetzung der Korksubstanz [nach Kübler sind im

Korke Stearinsäuren, Phellonsäuren, Humminsäuren, Cerin, Gerbstoffe, Cellulose und Wasser enthalten (cf. Arch. f. Pharm. 1884. p. 219)], insbesondere auch ihre morphologischen und physiologischen Eigenschaften spielen dabei natürlich eine wesentliche Rolle.

Es werden zunächst ungebrauchte Korke verschiedener Qualität auf ihren Bakterien- und Schimmelpilzgehalt hin untersucht; dann folgen Untersuchungen von trocken gelagerten, in feuchter Luft gelagerten, ferner von in feuchtem Kellersande, sowie auf Schimmelpilzen gelagerten Flaschenkorken; auch wird die Permeabilität des eigentlichen Korkgewebes bei Flaschenkork für Mikroorganismen besonders geprüft.

Bezüglich des Korkes als Verschlußmaterial für Flaschen wurden Versuche angestellt, bei denen die Verkorkung einmal mit der Hand, dann mit der Korkmaschine (Mineralwasser, Flaschenweine) vorgenommen wurde.

Die Sterilisation von Flaschenkorken wurde sowohl mittels kochenden Wassers (Einwirkung a) 1 Minute, b) $^1/_2$ Stunde, c) 10 Minuten) als auch mit strömenden H_2O-Dämpfen während einer halben Stunde vorgenommen. Auch wurde die Frage flüchtig geprüft, ob gewisse Korksubstanzen abtötend auf Mikroorganismen einwirken könnten. Es stellte sich dabei heraus, daß wasserlösliche Bestandteile des Korkes gewisse Arten von Schimmelpilzen und Bakterien nach kürzerer oder längerer Einwirkung abzutöten vermögen.

Die Ergebnisse seiner Untersuchungen hat Verf. in folgenden Sätzen zusammengefaßt:

I. Im ungebrauchten Flaschenkorke bester (I.) und guter (II.) Qualität kommen gar keine oder nur vereinzelte Schimmelpilze und Bakterien vor. In solcher geringerer Qualität finden sich zwar stets Mikroben, oft aber in viel kleinerer Zahl als man annehmen dürfte.

II. Eine Infektion des Inhaltes von außen der mit Korken verschlossenen Flaschen findet weit eher zwischen Kork und Flaschenhalsrand als durch diesen statt.

III. Der Durchwanderung von Mikroorganismen durch gewöhnliche, nicht sehr große Flaschenkorke setzt der Umstand ein wesentliches Hindernis entgegen, daß bei solchen die erwähnten Gänge nicht längs, sondern quer verlaufen.

IV. Die Sterilisation von Flaschenkorken geschieht am besten durch Einwirkung strömenden Wasserdampfes während ungefähr einer halben Stunde.

Bezüglich der Sterilisation der Korke mag noch erwähnt werden, daß mit H_2O-Dampf behandelte Korke, auch wenn sie längere Zeit nach der Behandlung nicht gebraucht werden, absolut nichts an Qualität einbüßen sollen, indem sie nämlich in kurzer Zeit alles Wasser verlieren und die frühere Härte wieder erreichen, während bei jenen mit siedendem Wasser behandelten Korken nach Tagen noch Wasser in den Poren zu finden ist, was unter Umständen zum Wachstum von Schimmelpilzen und anderen Mikroben Veranlassung geben könnte. Bei besonderen Versuchen mit so behandelten Korken, welche in einer zugedeckten Glas-

schale an einem trockenen Orte aufbewahrt wurden, konnte man schon nach 14d einen Ueberzug von Hefen und Schimmelpilzen (Penicillium-Art) auf deren Oberfläche beobachten. Die Korke hatten einen muffigen, den sogenannten Kellergeruch. Mit Dampf behandelte zeigten einen derartigen Geruch nicht; ebensowenig konnte nach dem Verf. eine Organismenvegetation beobachtet werden. Heinze (Halle a. S.).

Wehmer, C., Zeugflecken durch Aspergillus fumigatus. [Aus dem techn.-chem. Lab. der Techn. Hochschule Hannover.] (Chemikerzeitung. 1902. No. 22. p. 241.)

Reinwollener, gefärbter Stoff zeigte beim Lagern in Indien (Singapore) das Auftreten von etwa 1 qcm großen mattgrauen Flecken, die sich bei der mikroskopischen Prüfung als durch Pilzhyphen, teilweise sogar mit allerdings sehr kümmerlichen Sporenköpfchen, verursacht erwiesen. Durch das Kulturverfahren konnte leicht in Reinkultur Aspergillus fumigatus isoliert werden. Wesenberg (Elberfeld).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Petermann, A., Institut chimique et bactériologique de l'état à Gembloux. Rapport sur les travaux de 1901. (Bullet. de l'agricult. Bruxelles. 1902. Livr. 2. p. 143—159.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hammerl, H., Zur Züchtung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXI. 1902. No. 12. p. 589—592.)

Holtermann, C., Fungus cultures in the tropics. (Ann. of the R. botan. garden Peradeniya. 1901. Vol. I. pt. 2. p. 27—37.)

Rostoski, Ueber den Wert der Präcipitine als Unterscheidungsmittel für Eiweißkörper. (Münch. med. Wochsch. 1902. No. 18. p. 740.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Abbott, A. C. and **Gildersleeve, N.**, On the actinomyces-like development of some of the acid resisting bacilli (Streptothrices?). (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXI. 1902. No. 12. p. 547—550.)

Bütschli, O., Bemerkungen über Cyanophyceen und Bakteriaceen. (Arch. f. Protistenkunde Bd. I. 1902. Heft 1. p. 41—58.)

Caullery, M. et **Mesnil, F.**, Sur les Fecampia Giard, Turbellariés endoparasites. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 13. p. 439—441.)

Cohn, L., Zur Anatomie und Systematik der Vogelcestoden. (Nova acta acad. caes. Leopold.-Carol. nat. curios. 1901. p. 263—450.)

Fuhrmann, O., Sur deux nouveaux genres de cestodes d'oiseaux. (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 670. p. 357—360.)

Hennings, P., Fungi S. Paulenses I. a cl. Puttemans collecti. (Hedwigia. 1902. Heft 3. p. 104—118.)

Jahn, E., Myxomycetenstudien. (Ber. d. dtsch. botan. Ges. 1902. Heft 5. p. 268—280.)
Klebs, G., Ueber Sporodinia grandis. (Botan. Ztg. 1902. No. 12/13. p. 177—199.)
Kunstler, J. et **Chaine, J.**, Notice sur une cécidomie nouvelle. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 16. p. 535.)
Mac Callum, W. G., On the life history of Actinomyces asteroides. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXI. 1902. No. 12. p. 529—547.)
Mazé, P., Recherches sur les modes d' utilisation du carbone ternaire par les végétaux et les microbes. II. mém. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1902. No. 5. p. 346—378.)
Scheurlen, E., Zur Kenntnis der Gasbildung, insbesondere Kohlensäureproduktion der Bakterien. (Internat. Beitr. z. innern Med. [Festschr. v. Leyden]. Berlin 1902. Hirschwald. Bd. II. p. 203.)
Webster, F. M., The trend of insect diffusion in North America. (32. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1901. Toronto 1902. p. 63—67.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

Heinzelmann, G., Ueber warme Anstelltemperaturen der Maische zur Gärung. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1902. No. 22. p. 237.)

Wein, Weinbereitung.

Desmoulins, A. M., La stérilisation des vins par filtrage. (Moniteur vinicole. 1902. No. 35, 36. p. 137—138, 142.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Hamann, Die Backfähigkeit der Mehle verschiedener Weizensorten. (Vierteljsschr. d. bayer. Landwirtschaftsrats 1902. Heft 2. p. 119—135.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

van Breda de Haan, J., Een aaltjes-ziekte der rijst „Omo Mentek“ of „Omo Bambang“. (Voorloopig rapport. Mededeel. uit 'S Lands plantentuin LIII.) VI. 65 p. gr. 8⁰. Batavia 1902.
Briem, H., Krankheitsdisposition der Zuckerrübe. (Centralbl. f. d. Zuckerindustrie. 1902. No. 37.)
Busse, W., Ueber den Rost der Sorghum-Hirse in Deutsch-Ostafrika. (Ber. d. dtsch. botan. Ges. 1902. Heft 5. p. 283—291.)
Fisher, G. E., Report of the inspector of San José scale 1901. No. 16. gr. 8⁰. Toronto 1902.
Haindl, A., Das Spritzen mit Kupfervitriolbrühe. Möller's dtsche Gärtner-Ztg. 1902. No. 24. p. 285—286.)
Hille, P., Der Apfelwickler (Carpocapsa pomonella). (Möller's dtsche Gärtner-Ztg. 1902. No. 23. p. 271—272.)
Hillmann, P., Die Ergebnisse der Umfrage, betreffend die Unkrautvertilgung. (Amtsbl. d. Landwirtsch.-Kammer f. d. R.B. Wiesbaden 1902. No. 26. p. 177—179.)
Hollrung, Die Aaskäfer und ihre Bekämpfung. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. 1902. No. 12. p. 177—179.)
Kitzenberg, L., Ein neues angeblich schädliches Insekt. (Gartenwelt. 1902. p. 293—294.)
Lepoutre, L., Recherches sur la production expérimentale de races parasites des plantes chez les bactéries banales. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 16. p. 927—929.)
Noel, P., Insecté briseur de pommier, Gnorimus nobilis. (Naturaliste 1902. No. 367. p. 141—142.)

Rechinger, C., Ueber ein seltenes Phytoptocecidium auf Artemisia campestris L. und seine Aehnlichkeit mit Filago arvensis L. (Verhandl. d. k. k. zoolog.-botan. Gesellsch. in Wien. 1902. Heft 3. p. 152—153.)

Remer, Der schwarze Aaskäfer auf Rüben. (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Schlesien. 1902. Heft 26. p. 771—772.)

Schroeder, Das Stock-Aelchen (Tylenchus devastatrix). (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Sachsen. 1902. Heft 20. p. 579--580.)

Stentzel, M., Verwertung der Abwässer von Zuckerfabriken als Düngemittel und als Mittel zur Bekämpfung der Rübennematoden. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1902. No. 8. p. 113—118.)

Stift, A., Einige Mitteilungen über den neuen Rübenschädling (Eurycreon sticticalis L.). (Wien. landwirtsch. Ztg. 1902. No. 47. p. 406—407.)

Thiele, R., Der Kampf gegen die Blutlaus. (Gartenflora. 1902. Heft 9. p. 242—245.)

Walter, M., Die wichtigsten Blattläuse unserer Obstbäume. (Försters Feierabende. 1902. No. 17. p. 129—132.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Haazen, V., Désinfection au moyen de la formaline. (12 p. avec fig. 8°. Angers 1902.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Originalreferate aus den Sitzungen gelehrter Gesellschaften.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. **Jena**, den 30. August 1902. **No. 8.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark. Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.

Hierzu als regelmäſsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über den merkwürdigen Teilungsprozess bei einem proteusartigen Luftbacillus.

[Vorläufige Mitteilung.]

Von Dr. med. et phil. **Teïsi Matzuschita** aus Nippon.

Mit 1 Tafel.

Obwohl die nachstehend bezeichneten Untersuchungen noch nicht so weit vervollständigt sind, um ein endgiltiges Urteil über ihren Wert zu gestatten, so scheint doch das vorläufige Ergebnis

mir so weit sichergestellt, daß es der Veröffentlichung übergeben werden kann.

Der bisher bekannte Prozeß der Teilung der Bakterien findet in folgender Weise statt: Bei Bacillen und Spirillen strecken sich die Elemente in der Richtung der Hauptachse, ohne eine Veränderung des Dickendurchmessers. Ist das Doppelte der Länge erreicht, so tritt die Teilung der Quere nach ein. Bei Streptokokken vollzieht sich die Teilung in einer gleichbleibenden Richtung. Andere Kokkenarten, z. B. der Tetragenus, wachsen abwechselnd in zwei aufeinander folgenden senkrechten Richtungen, wieder andere (Staphylokokken) scheinen mehrere Teilungsperioden hindurch nach einer Richtung wachsen zu können, so daß sie kurze Kettchen bilden, teilen sich aber auch senkrecht zu dieser ersten Richtung, so daß tetragenusartige Verbände entstehen. Bei den Sarcina-Arten endlich sind drei senkrecht zu einander stehende Wachstumsrichtungen vorhanden. Bei den Kokken, besonders bei den zweiachsig und dreiachsig gebauten, ist das Wachstum nicht einfach identisch mit dem Längenwachstum in der zur späteren Teilungsebene senkrechten Richtung, sondern es tritt meist noch ein Dickenwachstum hinzu.

Bei einigen Bakterien, z. B. Tuberkelbacillen, Leprabacillen, Diphtheriebacillen, Streptokokken u. a., findet man oft verzweigte Formen. Babes (Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XX. 1895) glaubt, daß Knospen- und Zweigbildung unter besonderen Umständen bei allen eigentlichen Bakterienformen, sowie bei höheren Pilzformen vorkommen. Die Zweigbildung beruht namentlich bei den Bakterien, ähnlich wie die Fadenbildung, auf dem Umstand, daß die Bildung getrennter Individuen in irgend einer Weise behindert ist. Die Zweigbildung im speziellen hängt noch mit einer Veränderung der Teilungsrichtung in den einzelnen Individuen zusammen.

Wie bereits erwähnt, wird es als ein Allgemeincharakter der Bakterien betrachtet, daß dieselben sich durch Querteilung vermehren und daß die Teilungslinien parallel zu einander stehen. Wenn dieses Prinzip immer aufrecht erhalten bliebe, könnten in der That Verzweigungen nicht vorkommen.

Babes hat aber für gewisse Bakterienarten festgestellt, daß dieselben sich nicht immer parallel, sondern oft abwechselnd in senkrecht zu einander stehenden Ebenen teilen. Dies ist namentlich bei tetragenen Kokken deutlich zu sehen; hier kommt diese Bakteriengruppierung eben durch einen regelmäßigen Wechsel der Teilungsebene zu stande. Bei Staphylokokken hat Babes nachgewiesen, daß die Kokken sich mittels mehrerer im rechten oder selbst im spitzen Winkel zu einer erstehenden Teilungsebene segmentieren können, und es scheint eben die eigentümliche Gruppierung derselben auf diesen Umstand zurückzuführen zu sein. Babes hat noch bei Streptokokken eigentümliche Abweichungen vom Teilungstypus beobachtet, nämlich die Bildung von 4 (statt 2) Kokken an den Enden, oft auch in der Mitte der Kette. Diese 4 Kokken

entstehen aus einer Veränderung der Teilungsebene, indem entweder ein Diplococcus sich ähnlich dem Tetragenus durch eine der Achse der Kette parallelstehende Teilungsebene in 4 Kokken spaltet, oder indem ein Coccus sich im spitzen Winkel in 4 Kokken teilt. Eine einzige derartige Anomalie genügt, um wahre Zweigbildungen zu veranlassen, namentlich bei Ketten, deren Glieder fest zusammenhängen und in eine Scheide eingeschlossen erscheinen, die in vier geteilte Kokken, weiter zu Ketten auswachsen.

Aus den oben erwähnten Beobachtungen von Babes, welche mit den späteren Beobachtungen vieler Forscher übereinstimmen, ersehen wir, daß die vegetative Vermehrung nicht nur durch Querteilung, sondern, wenn auch selten, durch Längsteilung erfolgt.

Eine interessante, lebhafte Längsteilung habe ich bei einem Luftbacillus, welcher in garantierter Reinkultur bald Kugel-, bald Stäbchen-, bald Spiralenformen zeigt und keine Sporen bildet, beobachtet. Namentlich bei der isolierten Kugelform ist er im mit Methylenblau gefärbten Präparat kreisrund und homogen, selten sind in der Mitte etwas stark gefärbte 1 oder 2 Punkte vorhanden. Vor der Teilung der Kugel befinden sich in der Mitte der Zelle quere oder gekreuzte Striche, welche bald zu den Diplokokken- oder Sarcina-Formen übergehen. Jede Zelle der Diplokokken oder Sarcina-Formen teilt sich wieder in derselben Weise, doch ist oft die Teilungsebene verschieden, indem sich eine Zelle quer, die andere in der Länge teilt (Fig. I und II, 1). Die sarcinaartige Teilung ist in hängender Bouillontropfenkultur ebenfalls gut nachweisbar, namentlich in Form einer kreisrunden Kugel, welche durch ein helles Kreuz in 4 Teile geteilt erscheint (Fig. V, 6—8).

In Fig. I, 1, 4, 12; II, 1, 5, 6; III, 9 erkennt man durch *T*- oder *Y*- oder *V*-förmige Striche die häufige Dreiteilung der Kugeln. Die ovale Kugel teilt sich oft durch zwei parallele Striche in 3 Teile (Fig. I, 2).

Aus einer Kugel, besonders aus Diplokokkenformen, kommen sproßartige Tochterzellen, wie bei der Hefe, vor, wie dies in Fig. I, 11; II, 1, 5, 10—12; V, 1, 2 gut zum Ausdruck gelangt.

Die Kugeln erscheinen bald isoliert, bald in Diplo-, Tetradenkokken-Formen oder in Sarcina-Formen. In Fig. I, 5, 8; II, 1, 13; V, 4 erkennt man eigentümliche Sarcina-Formen. Bei wieder anderen Formen hängen die Zellen in kurzen Ketten, welche aus Kugeln, oder Kugeln und kurzen bis längeren Stäbchen bestehen, zusammen.

In den Ketten fand man ebenfalls die oben genannten eigentümlichen Teilungslinien.

Noch interessanter ist die bei Fig. II, 3, 4, 7, 14, 15; III, 7, 8 erkennbare Teilung der Stäbchen in der Richtung der Längsachse und nochmalige Spaltung der runden Zellen in 2 Reihen liegender Sarcina-Ketten (vergl. Fig. II, 7 und 15).

Nun muß man fragen, ob die hier erkennbare Längsteilung der Stäbchen ursprünglich in den Stäbchen eintritt oder ob dieselbe verlängerte Diplokokken- oder Sarcina-Formen darstellt.

Da bei Stäbchen meist nur Querteilung nachweisbar ist, während bei Kugeln häufig Quer- und Längsteilung stattfindet, scheint es mir, daß solche Längsteilung der Stäbchen durch verlängerte Diplokokken oder Sarcina-Form bedingt ist. In einer späteren Mitteilung werde ich darüber eine genauere Erklärung geben.

Die Zweigbildung ist ebenfalls nachweisbar, doch habe ich niemals solche feine Zweige, wie sie bei höheren Spaltpilzen gesehen werden, beobachtet, sondern immer nur kurze, spurweise Zweige, wie bei anderen Bacillen (Fig. II, 3, 10, 14; III, 8; V, 5, 6). Selten fand man Penicillium-ähnliche Verzweigung (Fig. II, 3).

Der in Fig. II, 14 erkennbare gekrümmte Teil eines Astes ist anscheinend die Grundlage der später sich bildenden Zweige.

Oft ist auch Kolbenbildung an den Enden des Stäbchens zu beobachten.

Bei Involutionsformen ist die Babes'sche metachromatische Substanz deutlich nachweisbar (Fig. III).

Bei Spirillenformen ist nirgends die Teilungslinie zu erkennen, sondern es sind nur stark gefärbte kleine Pünktchen sichtbar (Fig. II, 8; IV).

Wenn man den Inhalt der Beobachtung kurz zusammenfaßt, gelangt man zu folgendem Resultat: Dieser Luftbacillus ist ein drei verschiedene Formen (Kugeln, Stäbchen und Spiralen) zeigender proteusartiger Mikroorganismus. Die drei genannten Formen teilen sich verschieden, und zwar a) die Kugelform durch Quer- und Längsteilung in 2 bis 4 Zellen, b) die Stäbchenform meist durch Querteilung in zwei, selten durch Quer- und Längsteilung in 4 Zellen, c) die Spiralenform nur durch Querteilung in 2 Zellen; der erwähnte Luftbacillus vermehrt sich also durch Quer- und Längsteilung.

Tafelerklärung.

Fig. I. Mit Methylenblau gefärbtes Präparat aus bei 24° C aufbewahrter, 24 Stunden alter Gelatinekultur. $^{800}/_{1}$.

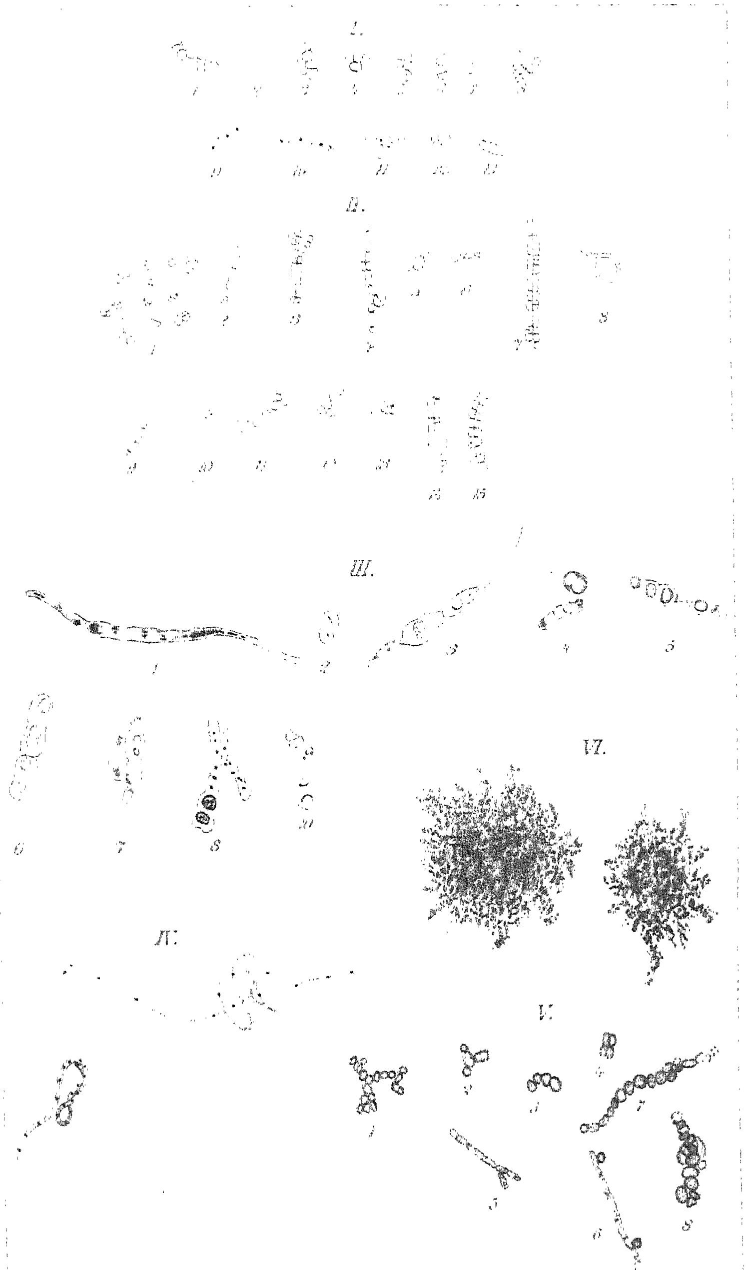
Fig. II. Mit Methylenblau gefärbtes Präparat aus bei 37° C gewachsener, 24 Stunden alter Glycerinagarstrichkultur. $^{800}/_{1}$.

Fig. III. Mit Methylenblau gefärbtes Präparat aus bei 37° C gewachsener, 3 Wochen alter 2-proz. Traubenzuckeragarstrichkultur. $^{800}/_{1}$.

Fig. IV. Mit Methylenblau gefärbtes Präparat aus bei 37° C gewachsener, 3 Wochen alter Kartoffelkultur. $^{800}/_{1}$.

Fig. V. Präparat aus bei 37° C gewachsener, 24 Stunden alter, hängender Bouillontropfenkultur. $^{800}/_{1}$.

Fig. VI. Tiefliegende Kolonieen in Glycerinagarplattenkultur, 24 Stunden bei 37° C gewachsen. $^{60}/_{1}$.



Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Ueber den Einfluss des Lichtes auf die Atmung der niederen Pilze.

Von **N. A. Maximow.**

[Aus dem botanischen Laboratorium der St. Petersburger Universität.]

Mit 2 Figuren und 18 Diagrammen.

(Schluß.)

Dunkelheit 112,2 (112,2), 118,8 (118,8), 124,8 (124,8), 128,4 (128,4), 133,8 (133,8), 136,2, 139,2.

Licht 136,2, 140,4, 142,8, 145,2, 147,0, 148,2, 152,4, 150,0, 153,0 (153,0), 155,4 (155,4).

Dunkelheit 157,8, 156,6, —, 159,6, 162,6 (162,6), 162,6 (162,6), 166,8 (166,8), 168,0 (168,0), 169,2 (169,2), 170,4 (170,4), 169,8 (169,8).



Diagr. 1.

Man merkt keinerlei Einfluß des Lichtes.

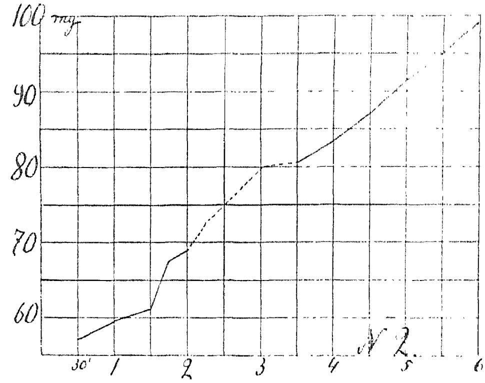
2. Versuch. 15. Febr. 1900.

Kultur vom 12. Febr. Dünnes, halbdurchsichtiges, weißes Mycelium auf Raulin-Flüssigkeit; die Nährlösung wurde nicht gewechselt; im Laufe des Versuches hat sich der Pilz merklich entwickelt. Trockengewicht des Pilzes 0,64 g. Der Röhrenwechsel alle 15 und 30 Minuten ausgeführt. Temperatur 32,75—32,90; ohne Rührwerk; elektrisches Licht mit Reflektor.

Dunkelheit 57,0 (57,0), 59,6 (59,6), 61,2 (61,2), 67,8, 69,0.

Licht 72,6, 75,0, 77,4, 79,8, 80,4 (80,4).

Dunkelheit 83,4 (83,4), 87,0 (87,0), 91,8 (91,8), 94,8 (94,8), 99,0 (99,0).

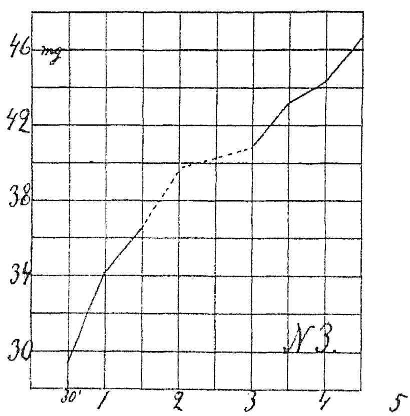


Diagr. 2.

Das Licht bewirkte keinerlei Veränderungen im Atmungsprozeß.

3. Versuch. 2. Febr. 1901. Kultur vom 31. Jan. Dünnes, durchsichtiges weißes Mycelium; Raulin-Flüssigkeit, ohne Zinksalze, woher Trockengewicht und CO_2-Menge geringer als in den vorausgegangenen Versuchen. Trockengewicht 0,27 g. Der Röhrenwechsel alle 30 Minuten ausgeführt. Mit Rührwerk. Temperatur 27,75—27,85°. Elektrisches Licht mit Reflektor.

Dunkelheit 29,4, 34,2, 36,6.
Licht 39,6, 40,2, 40,8.
Dunkelheit 43,2, 44,4, 46,8.
Kein bestimmter Einfluß des Lichtes.

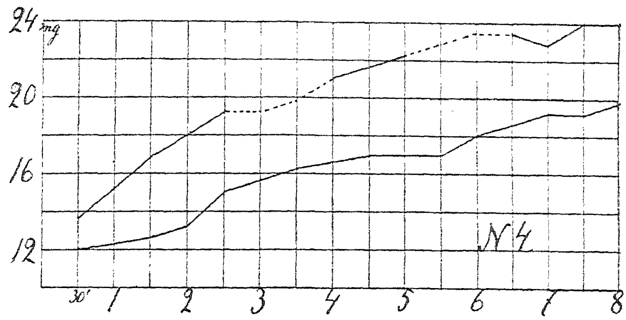


Diagr. 3.

4. Versuch. 5. Febr. 1901.

Zwei einander gleiche Kulturen vom 3. Febr. Das Mycelium sehr dünn und durchsichtig. Der Thermostat, woselbt die Kulturen aufgezogen wurden, war einen Tag außer Thätigkeit, weshalb auch die Entwickelung der Pilze schwächer als bei den früheren Versuchen war. Die Raulin-Flüssigkeit ohne Zn. T. 27,85—27,90. Mit Rührwerk. Elektrisches Licht mit Reflektor. Röhrenwechsel alle 30 Minuten.

	Versuch	Kontrolle
D.	15,6, —, 16,8, 18,0, 19,2	12,0, —, 12,6, 13,2, 15,0
L.	19,2, 19,8, 21,0	15,6, 16,2, —
D.	21,6, 22,2	16,8, 16,8
L.	22,8, 23,4, 23,4	16,9, 18,0, 18,6
D.	22,8, 24,0, 24,0	19,2, 19,2, 19,8.



Diagr. 4.

Auch bei diesem Versuche hat das Licht gar keinen Einfluß auf die Atmung des Pilzes ausgeübt.

Somit übt das Licht auf die Atmung junger, in guten Nährbedingungen stehender Pilzkulturen weder einen steigenden noch einen herabsetzenden Einfluß aus, wenigstens bei der Intensität, welche bei der Anwendung einer Bogenlampe erreicht wird. Leider hatte ich keine Gelegenheit, die Richtigkeit dieses Folgeschlusses auch für Sonnenlicht zu prüfen.

Gehen wir nun zu den Versuchen mit alten Kulturen über:

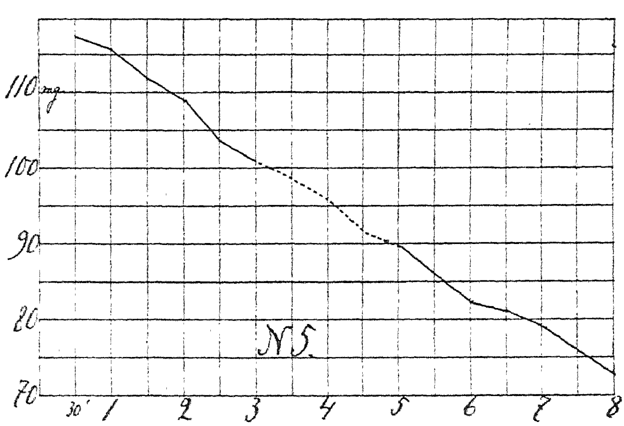
5. Versuch. 18. Jan. 1900.

Kultur vom 15. Jan.: Die Myceliumschicht ziemlich dick, weiß, mit Conidienträgern bedeckt; die Sporen noch meistens weiß, nur stellenweise hellbraun gefärbt. Trockengewicht 1,92 g; während des Versuches wurden keinerlei Veränderungen in der Entwickelung des Pilzes bemerkt. Die Nährlösung wurde nicht gewechselt. Die eigentlichen Röhrenwechsel alle 30 Minuten. T. 31,25—31,35°; ohne Rührvorrichtung. Elektrisches Licht, ohne Reflektor.

D. 117,6, 115,8, 111,6, 108,8, 103,8, 100,8.

L. 98,4, 96,0, 91,8, 89,4.

D. 85,8, 82,2, 81,0, 79,2, 75,6, 72,6.



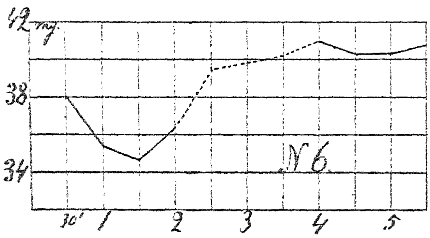
Diagr. 5.

Regelmäßiges Sinken der Atmung sowohl im Licht als auch in Dunkelheit.

6. Versuch. 7. Febr. 1901.

Kultur vom 3. Febr.: Mycelium vollständig weiß gefärbt, mit stellenweise gelblichen Sporen. Die Raulin-Flüssigkeit, ohne Zn, wurde nicht erneut. T. 27,90°; mit Rührwerk. Elektrisches Licht, mit Reflektor. Röhrenwechsel alle 30 Minuten.

D. 38,1, 35,4, 34,8, 36,6.
L. 39,3, 39,9, 40,2, 41,1.
D. 40,5, 40,5, 40,8.



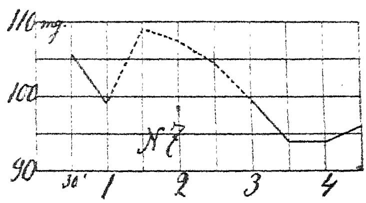
Diagr. 6.

Im Licht ist ein Steigen der Atmungskurve zu konstatieren. Jedoch in Anbetracht einiger Sprünge der Kurve in Dunkelheit und des gewissermaßen unsicheren und ungleichmäßigen Fortlaufes der Atmung kann der Versuch nicht als überzeugend betrachtet werden.

7. Versuch. 29. April 1900.

Kultur vom 26. April. Färbung fast weiß; stellenweise gelbliche Sporen. Die Raulin-Nährlösung wurde nicht gewechselt. T. 27,70—27,80°. Mit Rührwerk. Direktes Sonnenlicht (von 12 Uhr 30 Min. bis 2,30). Röhrenwechsel alle 30 Minuten.

D. 105,6, 99,3.
L. 109,2, 107,4, 104,7, 99,6.
D. 94,2, 94,2, 96,2.



Diagr. 7.

Bei Licht schroffes Steigen der Atmung, welches während der ersten halben Stunde 10 Proz. erreicht und später allmählich schwächer wird.

8. Versuch. 9. Mai 1900.

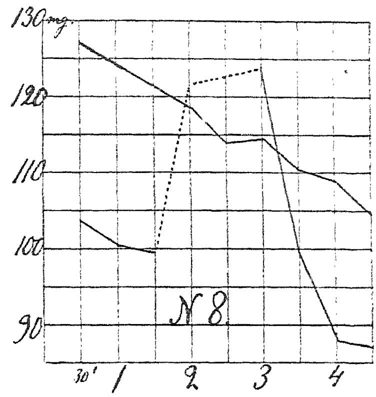
Alte, dunkelbraun gefärbte Kultur; die zur Kontrolle dienende ein wenig dunkler. Am 7. Mai wurde die erschöpfte Raulin-Flüssigkeit durch frische Lösung ersetzt. T. 31,7—31,85°; mit Rührwerk. Direktes Sonnenlicht (von 12 Uhr 20 Min. bis 2 Uhr). Röhrenwechsel alle 30 Minuten.

	Versuch	Kontrolle
D.	103,8, 100,8, 99,6	127,2, 124,2, 121,2
L.	121,5, 122,7, 123,9	118,2, 114,0, 114,6
L.	99,3, 87,9, 87,0	110,4, 108,9, 104,4

Im Licht steigt die Atmung sofort auf 22 Proz., beim Einstellen der Beleuchtung tritt ein schroffes Sinken derselben ein. Dieser Versuch ist besonders überzeugend, weil der Kontrollversuch eine

Vorstellung über die eventuelle Richtung der Atmungskurve des Pilzes liefert.

Demnach tritt bei allen auf Nährlösungen befindlichen Kulturen das Licht in Bezug auf den Atmungsprozeß fördernd auf, wobei jedoch, um diese Wirkung herbeizurufen, ziemlich große Intensität des Lichtes nötig ist; elektrisches Licht, welches nicht durch einen Reflektor verstärkt war, hat auch in diesem Falle keinerlei Einfluß auf die Atmung ausgeübt. Freilich sind mehr als 4 Versuche nötig, um diesem Folgeschlusse volle Gewißheit zu verleihen.



Diagr. 8.

II. Versuche mit destilliertem Wasser an Stelle der Nährlösung.

Zwecks Ersetzung der Nährlösung, auf welcher der Pilz gezüchtet wurde, durch destilliertes Wasser verfuhr ich folgendermaßen: 3—4 Stunden vor Beginn des eigentlichen Versuches wurde die Nährlösung durch eine der beiden Seitenhälse des Roux-Kolbens abgegossen, während der andere Seitenhals mit einem großen, destilliertes Wasser enthaltenden Gefäß verbunden wurde. Durch letzteren Hals wurde der Kolben mit Wasser gefüllt, und zwar bis zum früheren Niveau. Die Pilzhaut blieb hierbei völlig unverletzt. Nach 5—6maligem Wiederholen dieser Manipulation und sorgfältigem jemaligem Entwerfen aller Reste der Flüssigkeit (namentlich aus dem Halse des Kolbens) gelang es mir, jede Spur der Nährlösung völlig wegzuschwemmen. In diesen Versuchen war der Pilz darauf hingewiesen, auf eigene Rechnung zu atmen, und nahm die Atmungsenergie hierbei rasch ab. Aus diesem Grunde mußten zu derartigen Versuchen vollkommen ausgewachsene, dicke Kulturen angewandt werden, denn die jungen, zarten produzierten viel zu wenig CO_2, und war es unmöglich, mit ihnen zu experimentieren. Somit habe ich die interessante Frage, welchen Einfluß das Licht auf die Atmung jüngerer Kulturen, bei Ersetzung der Nährlösung durch Wasser hat, völlig offen lassen müssen.

9. Versuch. 15. Febr. 1900.

Kultur vom 11. Febr. Auf der recht dicken, kompakten Mycelschicht sind hie und da fast schwarze Sporen zu sehen. Trockengewicht 1,04 g. T. 30,3—30,5°; ohne Rührwerk. Elektrisches, durch einen Reflektor kompensiertes Licht. Röhrenwechsel alle 30 Minuten.

D. 34,5, 33,9, 32,7, 30,5, 30,1, 29,0.
L. 34,2, 32,7, 30,5, 29,7.
D. 28,2, 26,0, 24,6, 23,4, 23,0.

Bei Licht schroff erhöhte Atmung; die Erhöhung erreicht während der ersten halben Stunde 18 Proz., alsdann fällt die Atmungsenergie allmählich.

10. Versuch. 5. Febr. 1900.

Kultur vom 29. Jan.; das Mycel ist dicht mit dunkelbraunen, stellenweise ganz schwarzen Sporen bedeckt. Trockengewicht 0,81 g. T. = 29,70—29,85°; ohne Rührwerk. Elektrisches, durch Reflektion verstärktes Licht. Röhrenwechsel nach je 30 Minuten.

D. 30,6, 28,8, 26,4, 24,3, 22,8.
L. 25,8, 24,9, 23,6, 22,8.
D. 20,7, 18,6, 19,2, 18,6, 18,0.

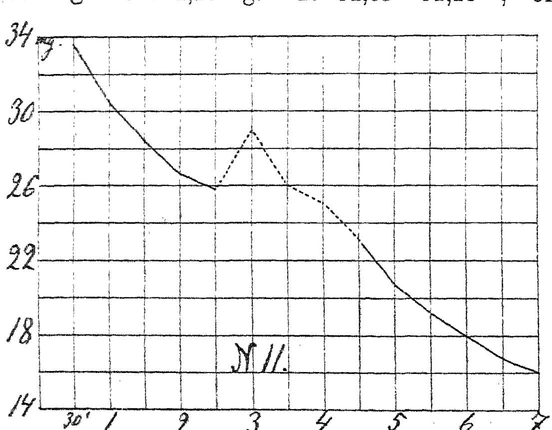


Diagr. 9.

Dasselbe Resultat wie bei Versuch 9. Erhöhung der Atmung in der ersten halben Stunde 13 Proz.

11. Versuch. 24. Jan. 1900.

Kultur vom 21. Febr.; ganz weiße, obwohl recht dicke Schimmelhaut. Trockengewicht 1,13 g. T. 31,05–31,15°; ohne Rühr-



Diagr. 10.

werk. Elektrisches Licht, verstärkt durch einen Reflektor. Röhrenwechsel nach je 30 Minuten.

D. 33,6, 30,5, 28,5, 26,7, 25,8.
L. 29,0, 26,0, 24,9, 23,0.
D. 20,7, 19,2, 18,0, 16,8, 16,0.

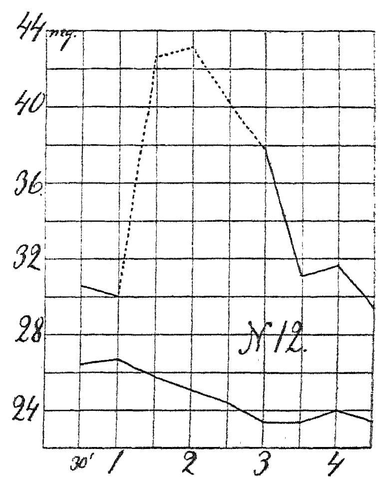
Abermals ein analoges Resultat, trotzdem diesmal das Mycel ganz weiß gewesen ist. Die Erhöhung erreichte in der ersten halben Stunde 12 Proz.

12. Versuch. 11. Mai 1900.

Alte, dunkelbraune Kulturen. T. 32,55—32,60°. Mit Rührvorrichtung. Direkte Insolation. Röhrenwechsel alle 30 Minuten (von 12 Uhr 45 Min. bis 2 Uhr 45 Min.).

Versuch	Kontrolle
D. 30,6, 30,0	26,4, 26,7
L. 42,6, 43,2, 40,2, 37,8	25,8, 25,2, 24,3, 23,4
D. 31,2, 31,8, 29,4	23,4, 24,0, 23,4

Sehr starke (42 Proz.), erst in der zweiten Stunde schwächer werdende Erhöhung des Atmungsprozesses im Licht. Die Nährlösung wurde bereits am Vorabende um 11 Uhr durch Wasser ersetzt, aus welchem Grunde die Atmungskurve im Dunkeln nur wenig von der horizontalen Linie abweicht, was am Kontrollversuch deutlich hervortritt.

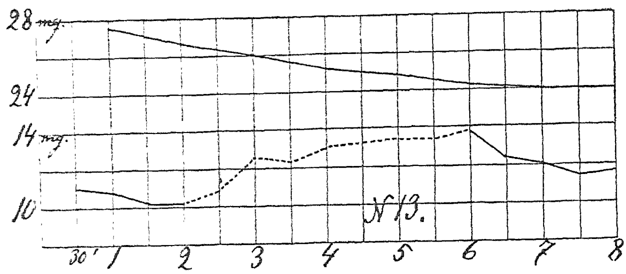


Diagr. 11.

13. Versuch. 16. Febr. 1901.

Zwei vom 12. Jan. stammende Kulturen; ziemlich feste Mycelschicht mit hellgrauen Sporen. Züchtung auf Raulin-Flüsssigkeit ohne Zn. Während des Wuchses im Thermostaten wurde die gasableitende Röhre des Kulturkolbens, welche später zu dem eigentlichen Versuch diente, durch einen in derselben sich entwickelnden Pilz verstopft, welcher Umstand auf die weitere Entwickelung der Versuchspilze hemmend wirkte. Trockengewicht des für den eigentlichen Versuch benutzten Pilzes 0,80 g; Trockengewicht des Kontrollpilzes 1,40 g. Entsprechend obigen Ziffern, waren auch die absoluten CO_2-Mengen nicht analog; dennoch dürfte der Charakter der Kurven, wie angenommen werden darf, fast analog gewesen sein, da beide Kulturen gleichzeitig der Nährlösung beraubt wurden. T. 27,9°; mit Rührwerk. Elektrisches, durch einen Reflektor verstärktes Licht. Röhrenwechsel alle 30 Minuten; beim Kontrollversuch nach je 1 Stunde, weil hier nur der allgemeine Charakter der Kurve wichtig war.

	Versuch	Kontrolle
D.	11,0, 10,8, 10,2, 10,2	27,6 (27,6), 26,7 (26,7)
L.	10,8, 12,6, 12,3, 12,9	26,0 (26,0), 25,2 (25,2)
	13,2, 13,5, 13,5, 13,9	24,9 (24,9), 24,3 (24,3)
D.	12,3, 12,0, 11,4, 11,7	24,0 (24,0), 24,0 (24,0)



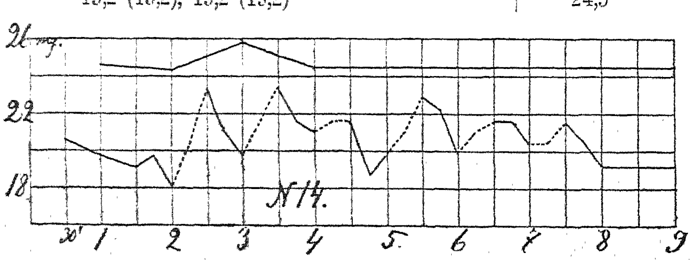
Diagr. 12.

Langsames, aber konstantes Steigen der Atmung während sämtlicher 4 Stunden der Beleuchtung; das schwache Steigen während der ersten halben Stunde läßt sich vielleicht durch das während jener Zeit trübe Brennen der elektrischen Lampe erklären. Dieser Versuch steht in gewissem Widerspruch zu den vorausgegangenen, bei denen gerade in der ersten halben Stunde rasches Steigen beobachtet wurde, welches später schwächer wurde.

14. Versuch. 12. Febr. 1901.

Kultur vom 8. Febr.; ziemlich kompaktes, hie und da hellgelbe Sporen aufweisendes Mycel. T. 27,65°; mit Rührwerk. Elektrisches Licht, mit Reflektion. Röhrenwechsel beim eigentlichen Versuch alle 15 und 30 Min. beim Kontrollversuch jede Stunde.

	Versuch	Kontrolle
D.	20,6 (20,6), 19,8 (19,8), 19,2 (19,2), 19,8, 18,0	24,6
L.	20,4, 23,4	25,8
D.	21,0, 19,8	
L.	21,6, 23,4	24,5
D.	21,6, 21,0	
L.	21,6, 21,6	24,5
D.	18,6, 19,8	
L.	21,0, 22,8	24,5
D.	22,2, 19,8	
L.	21,0, 21,6	24,6
D.	21,6, 20,4	
L.	20,4, 21,6	24,5
D.	20,4, 19,2	
	19,2 (19,2), 19,2 (19,2)	24,5



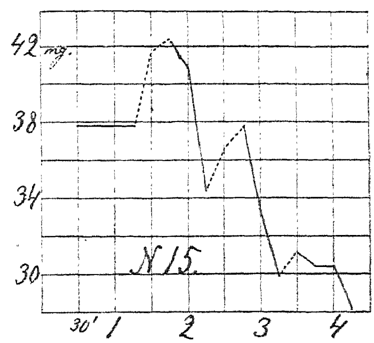
Diagr. 13.

Bei allen sechs wiederholten Beleuchtungen trat verstärkte Atmung zu Tage, welche ein wenig mit jeder Wiederholung, obwohl nicht gleichmäßig abnahm. Der Kontrollversuch lieferte eine fast horizontale Kurve. Die Kurve des eigentlichen Versuchs weist im allgemeinen denselben Charakter auf.

15. Versuch. 11. März 1900.

Kultur vom 8. März; kompakte, weiße, ziemlich dicke Schimmelhaut; Trockengewicht 1,20 g, T. 32,35—32,50 °; ohne Rührwerk. Elektrisches, durch einen Reflektor verschärftes Licht. Proben nach je 15 und 30 Minuten.

D. 37,8 (37,8), 37,8 (37,8), 37,8.
L. 41,6, 42,4.
D. 40,8, 34,5.
L. 36,5, 37,8.
D. 33,6, 30,0.
L. 31,2.
D. 30,5, 30,5, 28,2.



Diagr. 14.

Resultat analog mit Versuch 14, doch bei allgemeinem Sinken der Atmungsenergie.

Somit übt intensives Licht positiven Einfluß auf Pilze, welche auf destilliertem Wasser sich befinden, aus, wobei dieser Einfluß namentlich im Verlauf der ersten halben Stunde von ausnehmender Stärke ist, welche bei wiederholten Versuchen scheinbar abnimmt. Die Größe des Einflusses steht in Abhängigkeit von der Intensität des Lichtes.

III. Versuche bei ungünstigen Nährbedingungen.

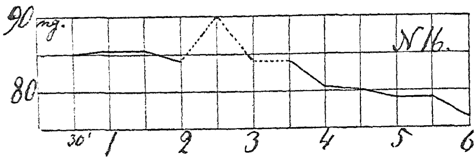
Diese Versuche können als Uebergang von der 1. Versuchsreihe zur zweiten betrachtet werden. Leider sind nur 2 Versuche dieser Art ausgeführt worden, und können daher mit Gewißheit keine Schlußfolgerungen aus ihnen gezogen werden.

16. Versuch. 18. März 1900.

Kultur vom 15. März; kompakte, weiße auf Raulin-Flüssigkeit herangezogene Mycelschicht. Trockengewicht 1,53 g. 6 Stunden vor Beginn des Versuches wurde die Raulin-Flüssigkeit ersetzt durch eine Lösung nichtinvertierten (in kaltem Zustande gelösten) Rohrzuckers (70 g auf 1500 ccm Wassers), und von dem Momente ab wurde ein langsamer konstanter Strom dieser Flüssigkeit durch den Objektbehälter geleitet. Im Laufe von 6 Stunden passierten den Kulturkolben 430 ccm Lösung. T. 32,95—33,05 °; ohne Rührwerk. Elektrisches, durch einen Reflektor verschärftes Licht. Röhrenwechsel nach je 30 Minuten.

D. 84,9, 85,5, 85,5, 84,0.
L. 90,0, 84,0, 84,0.
D. 80,4, 78,9, 78,1, 78,1, 76,5.

Die Erhöhung der Atmungsenergie erreicht im Lauf der ersten halben Stunde 7 Proz., später hört das Steigen rasch auf. Die



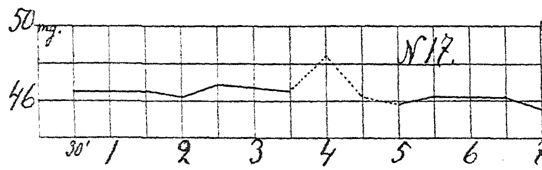
Diagr. 15.

Richtung der Atmungskurve ist im allgemeinen eine fallende, wie überhaupt bei dreitägigen Kulturen.

17. Versuch. 25. März 1900.

Kultur vom 15. März; Nährlösung (Raulin-Flüssigkeit mit 0,01 Proz. $CuSO_4$) wurde nicht ersetzt; Mycel weiß, fast durchsichtig. Trockengewicht 0,63 g. T. 33,50 — 33,60 °; ohne Rührwerk. Elektrisches, durch einen Reflektor kompensiertes Licht. Röhrenwechsel jede halbe Stunde.

D. 46,5, 46,5, 46,5, 46,2, 46,8, —, 46,5.
L. 48,4, 46,2, 45,8.
D. 46,2, 46,2, 46,2, 45,5.



Diagr. 16.

Das Licht blieb fast einflußlos; nur während der ersten halben Stunde war ein ganz geringes, ca. 4 Proz. hohes Steigen zu beobachten.

Im allgemeinen dürfte angenommen werden, daß bei ungünstigen Nährbedingungen das Licht zwar erhöhend auf die Atmungsenergie der Pilze einwirkt, aber nur in geringem Maße.

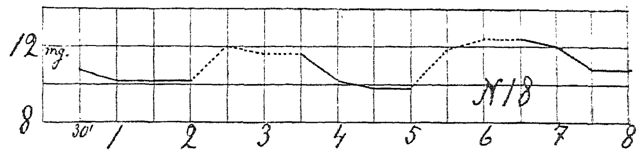
B. Versuche mit Mucor stolonifer.

Mit dieser Art sind von mir nur 2 Versuche ausgeführt worden, welche nicht ganz analoge Resultate erbrachten. Uebrigens kann auch hier positive Einwirkung des Lichtes auf die Atmung der Pilze konstatiert werden.

18. Versuch. 23. Febr. 1901.

Kultur vom 20. Febr. auf Raulin-Flüssigkeit. Letztere ist nicht ganz vom Mycel bedeckt. Die langen Sporangienträger bilden einen losen, noch ganz weißgefärbten „Filz", welcher sich unter dem Einflusse des Lichtes rasch zusammengezogen hat. T. 27,95 °; mit Rührwerk. Elektrisches Licht mit Reflektor. Röhrenwechsel nach je 30 Minuten.

D. 10,8, 10,2, 10,2, 10,2.
L. 12,0, 11,7, 11,7.
D. 10,2, 9,9, 9,9.
L. 11,7, 12,3, 12,3.
D. 12,0, 10,8, 10,8.



Diagr. 17.

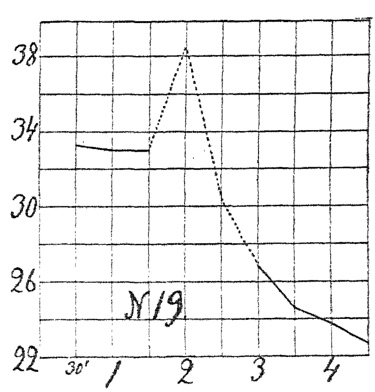
Die Erhöhung erreicht im Licht 18 Proz. und bleibt dann während der ganzen Beleuchtungsdauer auf derselben Höhe. Bei Wiederholung des Versuches ist kein Nachlassen des Lichteinflusses bemerkt worden.

19. Versuch. 26. Febr. 1901.

Kultur vom 20. Februar; loser Filz aus langen Sporangienträgern; stellenweise schwarze Sporen, weshalb der Filz grau gefärbt erscheint; unter dem Einflusse des Lichts hat sich der Filz rasch zusammengezogen. T. 27,85°; mit Rührwerk. Elektrisches, mittels Reflektor verstärktes Licht. Röhrenwechsel alle 30 Minuten.

D. 33,3, 33,0, 33,0.
L. 38,4, 30,3, 26,7.
D. 24,6, 23,7, 22,5.

Im Laufe der ersten halben Stunde erreicht die Erhöhung der Atmungsenergie bei Licht 16 Proz. und fällt dann rasch; das Licht hat scheinbar einen äußerst schädlichen Einfluß auf den Pilz ausgeübt, was hervorgeht sowohl aus dem Zusammenschrumpfen der Sporangienträger als auch aus dem Umstande, daß trotz Zugabe frischer Nährlösung die weitere Entwickelung des Pilzes außerordentlich langsam vor sich ging (ebenso wie dies mit der von Versuch 18 zurückgebliebenen Kultur der Fall war) und der Pilz überhaupt nicht mehr in seinen normalen Zustand zurückkehrt.



Diagr. 18.

Die Resultate aller besprochenen Versuche zusammenfassend, kann man zu nachstehenden Schlußfolgerungen gelangen:

1. Der Einfluß des Lichts auf die Atmung des Aspergillus niger steht in Abhängigkeit vom Alter des Pilzes und von dessen Nährbedingungen.

2. Auf die Atmung junger Pilzkulturen, welche in günstigen Nährverhältnissen sich befinden, übt das Licht (wenigstens das elektrische) keinen Einfluß aus.

3. Auf die Atmung alter Kulturen wirkt das Licht fördernd ein, und tritt der Effekt greller in den Fällen zu Tage, wo diese Kulturen des Nährsubstrates beraubt sind, und schwächer, falls Nahrung in genügender Menge vorhanden ist.

4. Die Einwirkung des Lichts kommt besonders zu Beginn der Beleuchtung zum Ausdruck, gewöhnlich im Laufe der ersten 30 Minuten, und läßt alsdann allmählich nach; übrigens ist diese Erscheinung nicht bei allen Versuchen konstatiert worden.

5. Bei wiederholtem Wechsel von Dunkelheit und Beleuchtung nimmt der Einfluß des Lichtes an Intensität scheinbar etwas ab.

6. Auf die Atmung des Pilzes Mucor stolonifer übt das Licht wenigstens in der ersten halben Stunde einen positiven erhöhenden Einfluß aus, obwohl es auf die spätere Entwickelung des Pilzes äußerst schädlich wirkt.

Zum Schlusse sei nochmals darauf hingewiesen, daß die Zahl meiner Versuche eine durchaus ungenügende ist, und können daher obige Schlußfolgerungen auf Endgiltigkeit nicht Anspruch haben. Diese Mangelhaftigkeit des Materials zwingt mich, auf irgendwelche allgemeine Schlußfolgerungen einstweilen zu verzichten.

Außerdem war ich genötigt, sehr viele interessante Fragen bei seite liegen zu lassen. So z. B. wäre es interessant, den Einfluß des Lichtes auf die Atmung der Pilze zu studieren, wenn als Nährsubstrat nicht Zucker und Weinsäure, wie in allen meinen Versuchen, sondern auch andere Stoffe, wie z. B. Pepton, angewandt würden, denn laut den Forschungen Elfving's steht die Beeinflussung des Lichtes auf die Entwickelung der Pilze in beträchtlicher Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Nährstoffes (was Kolkwitz' Versuche anbelangt, so arbeitete allerdings auch er mit verschiedenen Nährsubstraten, gab aber den Pilzen stets so geringe Mengen von Nahrung, daß seine Versuche den meinigen gleichgestellt werden können, wo die Nährlösung durch destilliertes Wasser ersetzt war). Ferner wäre es nicht minder interessant, das verschiedene Verhalten dem Lichte gegenüber einerseits den höheren Pilzen näher zu ergründen, hinsichtlich welcher alle früheren Erforscher darin einig sind, daß das Licht auf deren Atmungsprozeß hemmend wirkt, und andererseits der niederen Pilze, bei denen das Licht erhöhte CO_2-Produktion hervorruft. Außerdem wäre es notwendig, zu erforschen, ob parallel der im Licht rasch wachsenden CO_2-Produktion entsprechende Aufnahme von Sauerstoff vor sich geht oder das Licht nur auf den einen Teil des Atmungsprozesses seinen Einfluß ausübt. Auf diese Fragen, sowie mehreren anderen von speziellerem Charakter, welche unaufgeklärt geblieben sind, weil die Zahl der ausgeführten Versuche nicht genügte, hoffe ich in allernächster Zeit zurückzukommen.

Bevor ich schließe, ergreife ich mit Freuden die Gelegenheit, hier dem Herrn Prof. Dr. D. I. Iwanowsky meinen wärmsten Dank auszusprechen, auf dessen Anregung hin ich obige Arbeit ausgeführt habe, und insbesondere dem Herrn Assistenten A. A. Richter für dessen zahlreiche, wertvolle Ratschläge und Anweisungen.

Untersuchungen über die Arteinheit der Knöllchenbakterien der Leguminosen und über die landwirtschaftliche Bedeutung dieser Frage.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Halle a. S. Direktor Prof. Dr. Fränkel.]

Von Privatdocent **Dr. phil. H. Buhlert,**

Assistent am landwirtschaftl. Institut der Universität.

(Schluß.)

Erbse No. 9 (Pis.-Bakterien)

2. 9. gepflanzt. 20. 9. Graskeim sichtbar (das Epicotyl war unter dem Sande fortgewaschen, hatte sich erst in 5 cm Entfernung von dem Samen aufgerichtet); in schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 9 cm. 7. 10. 16 cm. 14. 10. 18 cm, die beiden untersten Blätter etwas gelblich. 21. 10. 23 cm. 5. 11. Gefäß geöffnet. Erbse 29 cm lang. An den Nebenwurzeln 10 Knöllchen. Sämtliche Knöllchen ungefähr von gleicher Größe, von der eines Rotkleesamenkorns. Viele Bakteroiden.

Erbse No. 10 vakat.

Erbse No. 11 (Phas.-Bakterien)

2. 9. gepflanzt. 11. 9. Graskeim sichtbar. 16. 9. 9 cm. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 16 cm. 7. 10. 24 cm, ein Blatt etwas gelb. 14. 10. 26 cm, die drei untersten Blätter trocken. 21. 10. 27 cm, die vier untersten Blätter trocken. 22. 10. Gefäß geöffnet. Erbse 33 cm lang. Die fünf untersten Blätter vertrocknet, das sechste fing an gelb zu werden. Keine Knöllchen.

Erbse No. 12 (Ac.-Bakterien)

2. 9. gepflanzt. 18. 9. Graskeim heraus (ähnlich wie bei No. 9). 19. 9. 1 cm. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 12 cm. 7. 10. 22 cm, das unterste Blatt beginnt gelb zu werden. 14. 10. 23 cm, unterstes Blatt vertrocknet, zweites etwas gelb. 21. 10. 3. und 4. Blatt etwas gelb. 28. 10. Gefäß geöffnet, Erbse 37 cm lang. Keine Knöllchen.

Bohne No. 13 (Faba-Bakterien)

2. 9. gepflanzt. 10. 9. Graskeim sichtbar. 16. 9. Wächst gut und kräftig. 19. 9. 7 cm lang. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 11 cm. 7. 10. 16 cm. 14. 10. Kräftigeres Aussehen als alle übrigen Bohnen. 21. 10. 18 cm. 25. 10. Gefäß geöffnet, 19 cm lang. Alle Wurzeln gut ausgebildet und ganz gesund. Knöllchen. Jedoch keine an der Hauptwurzel, alle und zwar 27 an den Nebenwurzeln. Bakteroiden.

Bohne No. 14 (Pis.-Bakterien)

2. 9. gepflanzt. 10. 9. Graskeim sichtbar. 16. 9. Wie Bohne No. 13. 19. 9. 7 cm. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 11 cm. 7. 10. 14 cm. 14. 10. 15 cm. 21. 10. 16 cm. 29. 10. Gefäß geöffnet. Bohne 19 cm lang, grünes kräftiges Aussehen. Die Wurzeln jedoch in nicht geringer Ausdehnung von bräunlich schwarzer Farbe und zwar sowohl die Haupt- als auch die Nebenwurzeln. 22 Knöllchen, nur an den Nebenwurzeln. In den größeren sehr viele, namentlich Y-förmige Bakteroiden, in den kleineren keine wahrzunehmen, doch in den vorhandenen Stäbchen viele ungefärbte Stellen.

Bohne No. 15 (Phas.-Bakterien)

2. 9. gepflanzt. 10. 9. Graskeim sichtbar. 16. 9. Wie bei Bohne No. 13. 18. 9. 8 cm. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 11 cm. 7. 10. 13 cm. 14. 10. 14 cm. 16. 10. 15 cm. 27. 10. 15 cm. 7. 11. Gefäß geöffnet. Bohne 20 cm lang, war frisch und grün. Bei einigen Wurzeln Beginn der Verfärbung. Keine Knöllchen.

Bohne No. 16 (Ac.-Bakterien)

2. 9. gepflanzt. 10. 9. Graskeim sichtbar. 16. 9. Wie bei Bohne No. 13. 19. 9. 7 cm. 20. 9. In schwarzes Papier gehüllt. 27. 9. 11 cm. 7. 10. 14 cm. 14. 10. 15 cm. 15. 10. Läßt die oberen Blätter hängen. 21. 10. 16 cm. 1. 11. Gefäß geöffnet. Bohne 18 cm lang. Das unterste Blatt sehr klein geblieben und vertrocknet, die übrigen von gesundem Grün. Wurzeln alle fast ganz schwarz, nur bei einigen die Wurzelspitze gesund. Keine Knöllchen.

Der Uebersicht wegen sind die Resultate, welche die Knöllchenbildung betreffen, noch einmal in der nebenstehenden Tabelle zusammengestellt; gleichzeitig giebt dieselbe über den Ausfall der bakteriologischen Prüfung Aufschluß.

Wie ich hier wohl gleich anfügen darf, habe ich die Asparagin + Traubenzucker-Gelatineplatten und ebenso die Asparagin + Traubenzuckerröhrchen in erster Linie deswegen verwendet, um zu prüfen, ob nach Beendigung der Versuche noch wachstumfähige, also lebenskräftige Leguminosenbakterien vorhanden waren. Die zum Impfen benutzte kleine Menge Boden wurde immer aus der Nähe der Pflanzen entnommen; bevor die Probe für das zweite Asparagin + Traubenzucker-Röhrchen gezogen wurde, wurde die oberflächliche Schicht bis auf 2 cm sorgfältig entfernt. Aus der Tabelle geht hervor, daß es in allen Fällen gelungen ist, die eingeimpften Bakterien wieder nachzuweisen.

Gewiß wird sich nun manchem Leser angesichts der Beschreibung meiner Versuche die Frage aufgedrängt haben, ob bei der von mir gewählten Anordnung den Pflanzen denn genügend günstige Wachstumsbedingungen geboten worden seien. Ich glaube das bejahen zu können, obwohl ich ohne weiteres zugebe, daß die Bedingungen nicht gerade normal zu nennen sind. Aber das wird

No.	Pflanze	Die Bakterien stammen aus den Knöllchen von	Knöllchen	Asparagin + Traubenzucker-Gelatineplatten	Asparagin + Traubenzuckerröhrchen		Bouillonröhrchen		Fremd-infektion
					Probe von d. Oberfläche	Probe aus 2 cm Tiefe	Probe bis 3 cm Tiefe.	Probe bis 4 cm Tiefe	
1.	Erbse	Pis. sat.	—	—	eingegangen	—	—	—	—
2.	"	Vic. Faba	Knöllchen	Reinkultur von Leg.-Bakterien	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Keine Fremd-infektion
3.	"	Phas. vulg.	"	"	"	"	—	—	"
4.	"	Ac. spec.	—	"	—	"	—	—	"
5.	Bohne	Vic. Faba	Knöllchen	"	Wachstum	"	Wachstum	Wachstum	"
6.	"	Pis. sat.	—	"	"	"	—	—	"
7.	"	Phas. vulg.	—	"	"	"	—	—	"
8.	"	Ac. spec.	—	—	"	"	—	—	"
9.	Erbse	Pis. sat.	Knöllchen	außer Leguminosen einige fremde Kolonieen	"	"	Wachstum	Wachstum	Fremd-infektion
10.	"	Vic. Faba	—	—	eingegangen	—	—	—	—
11.	"	Phas. vulg.	—	Reinkultur von Leg.-Bakterien	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Wachstum	Fremd-infektion
12.	"	Ac. spec.	—	"	"	"	"	"	"
13.	Bohne	Vic. Faba	Knöllchen	"	"	"	—	—	Keine Fremd-infektion
14.	"	Pis. sat.	"	"	"	"	—	—	"
15.	"	Phas. vulg.	—	"	"	"	—	—	"
16.	"	Ac. spec.	—	"	"	"	—	—	"

überhaupt niemals möglich sein, wenn man das Ziel verfolgt, während der Dauer des Wachstums jede Fremdinfektion zu verhüten, ob man dabei nun so einfache Kulturgefäße wie in meinem Falle die Flaschen oder die komplizierteren Apparate verwendet, wie sie von Prazmowski, Stoklasa und Schulze beschrieben sind.

Wenn ein Umstand vielleicht nachteilig auf die Pflanzen eingewirkt hat, so wird es wohl noch am ehesten der Mangel jeder Luftcirkulation im Boden gewesen sein. Ich will vorausschicken, daß ich kein Gewicht auf das Trockenwerden und Abfallen einiger Blätter lege; ich glaube diese Erscheinung vielmehr als Folge einer ungenügenden Stickstoffernährung ansehen zu sollen, da der Sand keinen Stickstoff enthielt, solcher auch in der Düngung nicht gegeben wurde, und also, sobald der in dem Samen vorhandene Vorrat aufgezehrt war, was in dem einen Falle früher, in dem anderen später erfolgte, Mangel eintreten mußte. Daß die gebildeten Knöllchen in einigen Fällen wirksam gewesen sind, also Stickstoff gesammelt hätten, möchte ich in Anbetracht der kurzen Dauer der Versuche nicht mit Sicherheit behaupten. Die Thatsache, daß sowohl die Bohne 5, 13, 14 als auch die Erbse 9 ein Trockenwerden der Blätter gar nicht oder doch nur in geringem Maße zeigten, scheint freilich dafür zu sprechen[1]).

Um dem Vorwurf begegnen zu können, daß das zur Verfügung stehende Wasser nicht ausgereicht habe, habe ich den Boden des zuletzt (am 9. 11.) geöffneten Gefäßes auf seinen Feuchtigkeitsgehalt untersucht. Es war an diesem Tage noch eine Wassermenge vorhanden, die 44 Proz. der wasserfassenden Kraft entsprach; eine Schädigung durch Wassermangel wäre also noch nicht zu befürchten gewesen. Auch das Hängenlassen der Blätter, welches ich bei mehreren Bohnen zu verschiedenen Malen konstatierte, ist demnach nicht auf diese Ursache zurückzuführen, und es verbietet sich übrigens eine solche Annahme auch schon insofern, als die ganze Erscheinung immer nur von kurzer Dauer war und bald vorüberging. Welche Umstände sie hervorgerufen haben, läßt sich nachträglich kaum feststellen, und eine sofortige Untersuchung war natürlich nicht möglich, weil die Gefäße dann hätten geöffnet werden müssen.

Zu wirklichen und ernsten Bedenken giebt dagegen der Umstand Veranlassung, daß die Wurzeln aller Bohnen, mit Ausnahme der von No. 13 eine mehr oder minder starke Verfärbung und überhaupt ein kränkliches Aussehen zeigten. Die meisten der geschwärzten Wurzeln waren so mürbe, daß sie beim Herausnehmen der Pflanzen abrissen. Ich möchte danach fast annehmen, daß hierfür das Fehlen jeder Luftcirkulation verantwortlich zu machen ist.

---

1) Wenn man diese Annahme macht, ist es interessant zu sehen, daß in den bezeichneten Fällen die Knöllchen Bakteroiden enthielten, während sie bei den unwirksamen Knöllchen der Erbse No. 2 (Erbse No. 3 kommt wohl weniger in Betracht) fehlten. Nobbe und Hiltner haben bekanntlich die These von den Beziehungen zwischen Bakteroidenbildung und Stickstoffassimilation aufgestellt.

Gegen diese Ansicht spricht allerdings, daß einmal die Bohne No. 13 ein gut ausgebildetes und vollkommen gesundes Wurzelsystem besaß, und daß zweitens die Wurzeln der Erbsen in keinem Falle Krankheitserscheinungen darboten. Daß bei den letzteren sich keine Schädigung bemerkbar machte, während eine solche bei den Bohnen fast ausnahmslos eintrat, wird man wohl mit der individuellen Verschiedenheit der Pflanzen erklären können. Schwieriger liegt der Fall in Betreff der Bohne No. 13, die ja mit Faba-Bakterien geimpft war und reichliche Knöllchenbildung zeigte; man kann daher die Vermutung nicht von der Hand weisen, daß hier die Stickstoffsammlung schon begonnen hatte, und dadurch diese Bohne im Vergleich zu den übrigen bevorzugt, mehr gekräftigt und in die Lage versetzt wurde, schädigenden Einflüssen in besonderem Maße Widerstand leisten zu können. Doch wird man alsdann wieder einwenden, warum denn die Wurzeln der Bohne No. 5 und No. 14, die ungefähr ebenso stark mit Knöllchen besetzt waren, eine Schädigung erlitten haben. Hier besteht ohne Frage ein Widerspruch, und deshalb möchte ich nach wie vor der Ansicht sein, daß die mangelnde Luftcirkulation ungünstig gewirkt hat. Immerhin glaubte ich nicht, daß durch diesen Umstand die Versuchsresultate wesentlich beeinflußt sind. Eine derartige Annahme kann allein durch den Hinweis auf die Bohnen 5 und 14 schon widerlegt werden; beide hatten reichlich Knöllchen gebildet, und bei beiden waren die Wurzeln in nicht geringer Ausdehnung geschwärzt.

Anderseits sehen wir aber auch, daß die Bohne No. 15 die krankhafte Erscheinung erst in sehr wenig ausgeprägtem Maße zeigte, und doch hatte hier keine Knöllchenbildung stattgefunden. Wahrscheinlich wird die Knöllchenbildung bedeutend früher eingesetzt haben, als die schädigende Wirkung des Luftmangels begann.

Im Anschluß an das eben Erörterte möge gleich das Fehlen der Knöllchen bei der Bohne No. 6, die mit Pisum-Bakterien geimpft war, einer Besprechung unterzogen werden. Es ist sicherlich recht auffallend, daß hier keine Knöllchen gebildet sind, während dieselben bei Bohne No. 14, die ebenfalls mit Pisum-Bakterien infiziert war, in großer Anzahl konstatiert wurden. Hier scheint mir nun die Infektion eine ungenügende gewesen zu sein. Wie aus der Tabelle auf Seite 275 hervorgeht, wurde für die Gefäße 1—8 nur 1 ccm Aufschwemmung verwendet, während die zweite Hälfte eine Samenimpfung und außerdem in zwei Rationen 3 ccm Aufschwemmung erhielt. Die beiden Versuchsreihen wurden natürlich deswegen so verschieden behandelt, weil einerseits festgestellt werden sollte, ob eine Impfung mit nur 1 ccm genüge, andererseits, ob auch bei wiederholtem Oeffnen die Gefäße sich steril erhalten ließen. Auf den letzteren Punkt habe ich später einzugehen; die erste Frage scheint meines Erachtens deutlich durch das Experiment beantwortet zu sein und zwar dahin, daß eine so geringe Gabe von 1 ccm nicht in allen Fällen ausreicht. Das kann an sich nicht überraschen, wenn wir uns vergegenwärtigen, daß unter Umständen die Bakterien dann garnicht oder

doch nicht in gehöriger Menge an die Wurzeln gelangen, weil sie entweder nicht tief genug eindringen oder von vornherein überhaupt nicht in unmittelbarer Nähe der Pflanzen deponiert werden. Letzterer Fall namentlich ist bei der Schnelligkeit, mit welcher alle Manipulationen vorgenommen werden müssen, durchaus nicht ausgeschlossen. Es ist also eine mehrmalige Impfung mit kleineren Mengen oder die einmalige Anwendung einer größeren Dosis der Aufschwemmung nötig.

Ich bin mir nun wohl bewußt, daß, wenn ich das Fehlen der Knöllchen bei Bohne No. 6 auf eine ungenügende Infektion zurückführe, Bedenken darüber entstehen können, wie die negativen Resultate der Erbse No. 4 und der Bohne No. 7 und 8 zu beurteilen sind (bei den positiven Resultaten der ersten Reihe ist selbstverständlich ein Zweifel nicht möglich). Am einfachsten würde man diese Einwände dadurch beseitigen, daß man die angezogenen Fälle bei Aufstellung des Gesamtergebnisses überhaupt außer Betracht ließe, und dies müßte ohne Zweifel geschehen, wenn sie mit den korrespondierenden Versuchen der zweiten Reihe in Widerspruch ständen; da sie indessen im Gegenteil mit jenen durchaus übereinstimmen, können auch sie wohl als vollgiltig angesehen werden.

Bevor die letzten Folgerungen aus den mitgeteilten Thatsachen und Befunden gezogen werden können, muß nun endlich die Frage noch im Zusammenhange beantwortet werden, ob und wie weit es gelungen ist, die Pflanzen vor der Infektion durch fremde Keime zu schützen.

Wie ich oben anführte, sollten zu dem Zwecke kleine Mengen des Bodens in Fleischwasserpepton-Bouillon übertragen werden und zwar wurde zu diesem Behufe hier die oberflächliche Schicht des Bodens absichtlich vor der Entnahme der Proben nicht entfernt, um sowohl sie ebenso wie die tieferen Lagen auf ihren Bakteriengehalt prüfen zu können. Bei diesen Versuchen ergab sich nun, wie oben schon angedeutet, daß die Leguminosen-Bakterien entgegen meiner entsprechenden Annahme auch in Bouillon zu gedeihen vermögen.

Als ich nämlich von dem zweiten Gefäß (Erbse mit Faba-Bakterien) abgeimpft hatte, waren nach einigen Tagen beide Bouillon-Röhrchen getrübt, im hängenden Tropfen zeigten sich kleine Stäbchen mit der charakteristischen Bewegung, wie sie den Schwärmern des Bac. rad. eigen ist, und daneben waren auch größere Stäbchen vorhanden, denen man deutlich ansah, daß sie aus zwei oder mehreren einzelnen Gliedern zusammengesetzt waren. Diese hatten meistens keine oder eine bedeutend langsamere Bewegung.

Auf den mit einer Oese der getrübten Bouillon gegossenen Fleisch-Gelatine-Platten entwickelten sich zu meiner Ueberraschung typische Kolonien von Leguminosen-Bakterien, ebenso, als ich Asparagin + Traubenzucker-Gelatine verwendete. Es war hier gar kein Zweifel möglich, namentlich nach Vergleichen mit der Stammkultur, daß es sich um Leguminosen-Bakterien und zwar in Reinkultur handelte. Zur nochmaligen genaueren Klärung der Verhältnisse verimpfte ich nun von den auf Asparagin + Trauben-

zucker-Agar gezogenen Stammkulturen (Pisum sativum, Vicia Faba, Phaseolus vulgaris, Acacia speciosa) in Bouillon. Es wuchsen jetzt aber nur die Faba-Bakterien, die im hängenden Tropfen genau das eben beschriebene Bild boten, das von dem sonstigen namentlich dem im hängenden Tropfen aus Asparagin + Traubenzuckerlösung sich darstellenden blos durch das Vorkommen der längeren zusammengesetzten Stäbchen etwas abweicht. Durch mehrmaliges Plattengießen überzeugte ich mich aber, daß es sich auch hier um Reinkulturen handelte. Natürlich war es recht auffällig, daß nur bei den Faba-Bakterien Entwickelung eingetreten war, bei den übrigen drei Stämmen sie jedoch ausblieb, und das umsomehr, als auch die Faba-Bakterien früher nicht in Bouillon gewachsen waren. Dieser scheinbare Widerspruch wird aber wohl damit erklärt werden können, ja erklärt werden müssen, daß eine allmähliche Anpassung an die künstlichen Nährböden stattgefunden hatte.

Meine ersten Versuche, die Leguminosen-Bakterien in Bouillon zu züchten, wurden bald nach der entsprechenden Isolierung derselben aus den Knöllchen gemacht und schlugen sämtlich fehl. Bis zu dem Zeitpunkt aber, wo ich die Vegetationsversuche abbrach, waren natürlich vielfache Uebertragungen nötig geworden, bei denen freilich fast ausschließlich Asparagin + Traubenzucker-Agar, also ein weniger kräftiger Nährboden als die Bouillon, Verwendung fand. Aber jede neue Verpflanzung wird doch bewirkt haben, daß die Bakterien sich mehr und mehr an die veränderten Lebensbedingungen gewöhnten, sodaß sie endlich auch in der Bouillon zu gedeihen vermochten. Daß nun diese Erscheinung gerade bei den Faba-Bakterien zuerst auftrat, erklärt sich ungezwungen aus dem Umstande, daß diese eben am längsten auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet waren, isolierte ich sie doch bereits im April, während ich die übrigen Kulturen erst später anlegte. Ganz in Uebereinstimmung mit dieser Auffassung steht nun die weitere Thatsache, daß es mir kürzlich auch bei den Pisum- und Phaseolus-Bakterien gelungen ist, ein Wachstum in Bouillon zu erzielen.

Seit der erneuten Prüfung, welche, wie bemerkt, mit allen Stämmen vorgenommen wurde, züchtete ich sie auf Fleischwasser-Pepton-Gelatine, d. h. auf einem Nährboden weiter, auf dem von vornherein eine freilich etwas kümmerliche Entwickelung stattgefunden hatte. Vor jeder folgenden Uebertragung impfte ich nun auch in Bouillon, die ersten Male regelmäßig vergebens und erst jetzt in der fünften Generation gedeihen wenigstens die Pisum- und Phaseolus-Bakterien, während die Acacia-Bakterien immer noch versagen. Ich zweifle aber nicht, daß auch sie allmählich an die ihnen augenscheinlich so wenig zusagende Nährlösung gewöhnt werden können.

Nach den Erfahrungen, die ich hinsichtlich des Wachstums der Faba-Bakterien in Bouillon gemacht hatte, durfte ich also nicht mehr ohne weiteres annehmen, daß, wenn die Bouillon sich trübte, eine Verunreinigung mit fremden Keimen erfolgt sei. Dieser

Schluß war nur noch bei den mit Pisum-, Phaseolus- und Acacia-Bakterien infizierten Gefäßen erlaubt, bei den mit Faba-Bakterien infizierten dagegen mußte, wenn in der Bouillon Wachstum eingetreten war, jedes Mal erst eine genauere Untersuchung angestellt werden. Eine solche erwies sich noch bei dem Gefäß No. 5 (Bohne mit Faba-Bakterien geimpft) als nötig, auch hier waren in der Bouillon nur Faba-Bakterien enthalten. Die mit Proben aus dem Gefäß No. 13 (ebenfalls Bohne mit Faba-Bakterien geimpft) beschickten Bouillon-Röhrchen blieben beide steril, wahrscheinlich, weil in dem verwendeten Material gar keine oder nur sehr wenige Faba-Bakterien enthalten gewesen waren, die nun nicht zu Entwickelung gelangen konnten.

Leider fand aber auch in einigen Bouillon-Röhrchen Wachstum statt, in die Material aus nicht mit Faba-Bakterien infizierten Gefäßen übertragen war, und wirklich wurden hier ausschließlich fremde Mikroorganismen, in zwei Fällen eine, in einem Falle zwei verschiedene Bakterienarten konstatiert.

Hervorgehoben sei in diesem Zusammenhange dann auch noch ein scheinbarer Widerspruch in meinen bakteriologischen Befunden. Aus der Tabelle geht hervor, daß die mit Boden aus den Gefäßen No. 11 und 12 geimpften Bouillon-Röhrchen Wachstum, also Verunreinigungen zeigten, währen die zugehörigen Asparagin + Traubenzucker-Gelatine-Platten Reinkulturen von Leguminosen-Bakterien aufwiesen. Aber man wird nach der Erklärung nicht lange zu suchen brauchen, wenn man bedenkt, daß schon ein einziger vermehrungsfähiger Keim genügt, um schließlich eine Trübung der Bouillon hervorzurufen, während auf den Gelatine-Platten eine fremde Kolonie, namentlich, wenn sie den Kolonieen der Leguminosen-Bakterien ähnelt, sehr leicht übersehen werden kann.

Es wird nun natürlich noch unsere Aufgabe sein, zu erörtern, durch welche Fehler in der Anordnung und Ausführung der Experimente die Verunreinigung der Gefäße No. 9, 11 und 12 veranlaßt ist. Meines Erachtens ist es kein bloßer Zufall, daß gerade die Gefäße 9, 11 und 12 infiziert sind. In der Hauptsache haben sie zwar genau dieselbe Behandlung erfahren, wie die Gefäße No. 13—16, aber ein Unterschied liegt doch darin, daß die ersteren mit Erbsen, die letzteren mit Bohnen bepflanzt worden sind, und dieser Umstand scheint bedeutungsvoll gewesen zu sein.

In der zweiten Versuchsreihe wurde ja eine Samenimpfung angewendet, die, wie erwähnt, in der Weise vorgenommen wurde, daß ich die Samen auf der schrägen Fläche der Gelatine-Röhrchen hin- und hergleiten ließ. Bei den Bohnen ging diese Manipulation dank ihrer etwas gedrückten Gestalt sehr glatt von statten, während die runden Erbsen, als sie von dem Bakterienrasen etwas eingehüllt waren, infolge ihrer Größe an den Wänden der Reagensgläser ein Hindernis fanden und sich deshalb auch in die Kulturgefäße nicht ohne weiteres übertragen ließen. Es bedurfte vielmehr erst eines mehrmaligen Schüttelns und Neigens der Reagensgläser, und demgemäß konnte es auch nicht vermieden werden, daß die Flaschen längere Zeit geöffnet blieben.

Wie nicht verschwiegen werden soll, kann eine Verunreinigung des Gefäßes No. 11 auch noch durch einen anderen Umstand herbeigeführt sein. Eines Tages waren nämlich sämtliche Gefäße auf einen an das Zimmer, in welchem sie während der ersten Wochen standen, grenzenden Balkon gebracht worden. Leider hatte ich dabei nicht die nötigen Vorsichtsmaßregeln getroffen und so ereignete es sich, daß, als sich plötzlich ein etwas stärkerer Wind erhob, aus dem Gefäß No. 11 der Wattebausch herausgerissen wurde. Da ein anderer steriler Wattebausch erst herbeigeholt werden mußte, blieb das Gefäß etwa 1—2 Minuten offen. Es ist gewiß nicht unwahrscheinlich, daß in dieser Zeit fremde Mikroorganismen eingedrungen sind, aber natürlich kann außerdem noch durch die Samenimpfung eine Fremdinfektion veranlaßt sein.

Im allgemeinen hat sich jedoch, wie ich glaube, meine Methode für die Sicherung der Gefäße und Kulturen gegen eine unerwünschte Verunreinigung bewährt. Selbst das mehrmalige Oeffnen zwecks Impfung scheint ohne Nachteil geschehen zu können, wenn mit der nötigen Schnelligkeit und Vorsicht verfahren wird. Freilich wird man von vornherein nicht erwarten dürfen, daß alle Gefäße steril bleiben und es kann vielmehr schon als günstiges Ergebnis gelten, wenn von 16 Gefäßen nur 5, also 31 Proz. verloren gehen. Dabei habe ich die Gefäße No. 1 und 10 zu den verunreinigten gezählt, obwohl das Vorkommen des Ascochyta-Pilzes in Umständen begründet war, die ich nicht zu beeinflussen vermochte; schließe ich diese aus, so sinkt der Prozentsatz der infizierten Gefäße auf 21 Proz. Jedenfalls haben Prazmowski und Schulze weit weniger befriedigende Resultate erhalten, da sich bei ersterem selbst nach Ausschaltung der ganz verunglückten ersten Reihe der Prozentsatz der verdorbenen Versuche auf 40 Proz., bei Schulze auf 96 Proz. stellt.

Als ein besonders glücklicher Umstand ist es anzusehen, daß gerade nur die Gefäße No. 9, 11 und 12 verunreinigt sind, bei denen die Fremdinfektion ohne besondere Bedeutung ist. Ist es doch zweifellos, daß im Gefäß No. 9 die Knöllchenbildung bei der Erbse durch die verimpften Erbsen-Bakterien hervorgerufen ist, und umgekehrt haben in den Gefäßen No. 11 und 12 die Erbsen keine Knöllchen angesetzt, also den Beweis geliefert, daß die Phaseolus- und Acacia-Bakterien hier unwirksam geblieben sind.

In den in Betracht kommenden Fällen (ich schließe No. 1, 6 und 10 aus) sind nun also bei den Erbsen je einmal durch Erbsen-, Bohnen- und Phaseolus-Bakterien Knöllchen erzeugt worden, bei den Bohnen zweimal durch Bohnen, einmal durch Erbsen-Bakterien. Unwirksam sind sowohl bei den Erbsen, als auch bei den Bohnen die Acacia-Bakterien gewesen.

Im allgemeinen bestätigen demnach meine Versuche durchaus die Resultate von Nobbe und Hiltner, wenn auch die Phaseolus-Bakterien keine solche Wirksamkeit entfaltet haben, wie es bei den Versuchen der eben genannten Forscher der Fall war. Ich glaube deshalb auch, dieselben Schlußfolgerungen ziehen zu sollen wie sie, daß nämlich die die Knöllchen bei den verschie-

denen Species der Leguminosen hervorrufenden Bakterien lediglich Anpassungsformen einer und derselben Art, des Bacillus radicicola Beijerinck, sind. Denn mit der Annahme der Artverschiedenheit ständen alle die Fälle in Widerspruch, in denen eine Infektion mit anderen als den der Wirtsflanze angehörenden Bakterien gelungen ist.

Gerade diese positiven Resultate werden ohne Schwierigkeit nur durch die Voraussetzung der Arteinheit erklärt.

Aber wie kommt es, daß trotz dieser Uebereinstimmung aller Bakterien der Leguminosen niemals durch die Acacia-Bakterien Knöllchenbildung bewirkt ist? Um diese Frage beantworten zu können, müssen wir die weitere Annahme machen, daß die Bakterien derjenigen Leguminosen-Art, aus deren Knöllchen sie stammen, besonders scharf angepaßt sind. Ohne Zweifel können die Eigenschaften der Bakterien eine Abänderung erfahren, und ebenso werden diejenigen Bakterien am ehesten befähigt sein, in die Wurzeln einer bestimmten Pflanze einzudringen, welche gerade dem Einflusse dieser Art unterworfen gewesen sind, gleichviel ob das Verhältnis zwischen Bakterien und Pflanze ein rein symbiotisches, beiden Teilen ausschließlich gewinnbringendes ist, oder ob zunächst zwischen den Bakterien und der Wirtspflanze ein Kampf stattfinden muß. Natürlich wird dabei der Einfluß verschiedener Pflanzen wieder ein verschiedener sein, und in dieser Beziehung kann sehr wohl eine Abstufung gemäß dem natürlichen System eintreten. So erklärt es sich, daß die Bakterien der Erbsen und Bohnen, deren Wirtspflanzen derselben Gruppe, der der Viciaceen, angehören, sich wechselseitig vertreten können, daß dagegen die Phaseolus-Bakterien, deren Wirtspflanze den Erbsen und Bohnen ferner steht, nur einmal, daß endlich die Bakterien der Acacia überhaupt nicht wirksam geworden sind. Mit dieser Anpassungstheorie steht nun die Theorie der Arteinheit durchaus nicht in Widerspruch, ja letztere ist sogar die Vorbedingung für erstere, denn wir müssen doch annehmen, daß die Entwickelung der angepaßten Formen aus einer Grundform (Nobbe und Hiltner[1]) nennen sie die neutrale) heraus stattgefunden hat. Ursprünglich sind also nicht die jetzigen Varietäten der Leguminosen-Bakterien, sondern eine fest umschriebene Art vorhanden gewesen, und diese Varietäten sind auch jetzt noch nicht so konstant geworden, daß sie nicht noch fortwährend Abänderungen erfahren könnten. Die Richtigkeit dieses Satzes wird durch meine Versuche zweifellos bestätigt, namentlich diejenigen Fälle, in denen Phaseolus-Bakterien zur Anwendung kamen, scheinen mir beweisend zu sein. In der Mehrzahl der Fälle zeigt sich die Anpassung an die Art sehr scharf ausgeprägt, aber das eine positive Resultat lehrt doch, daß dieses Prinzip durchbrochen werden kann, weil eben die Eigenschaften der Bakterien noch abänderungsfähig sind. Was nun bei den Phaseolus-Bakterien möglich war, ist selbstverständlich bei den Acacia-

1) Sächs. landwirtschaftl. Ztg. 1893.
Landwirtschaftl. Vers.-Stat. 1893.

Bakterien nicht ausgeschlossen, und bin ich der Ueberzeugung, daß es gelingen wird, auch durch Acacia-Bakterien bei Erbse und Bohne Knöllchen zu erzeugen. Allerdings wird man sich zu diesem Zwecke wohl eines Umweges bedienen müssen, indem man die Acacia-Bakterien zunächst an Pflanzen zu gewöhnen sucht, die den Erbsen oder Bohnen mehr oder weniger nahe stehen. Die Unwirksamkeit der Acacia-Bakterien wäre also nicht eine absolute, sondern, vielleicht trifft dieser Ausdruck das richtige, nur eine zeitliche. Wenn man diese Annahme macht, und ich sehe keine Schwierigkeit für dieselbe, so stehen auch die negativen Resultate im vollen Einklang mit der Theorie der Arteinheit.

Für die Praxis des Landwirtschaftsbetriebes ist nun nicht so sehr der Umstand von Bedeutung, daß die Bakterien sämtlicher Leguminosen einer Art angehören, sondern vielmehr die Feststellung, daß bei einer bestimmten Leguminosen-Species die gerade aus deren Knöllchen stammenden Bakterien die größte Wirksamkeit zeigen. Es folgt hieraus, daß es dem Leguminosen bauenden Landwirt nicht gleichgültig sein darf, welche Varietät der Bakterien auf seinen Aeckern sich findet, denn die höchste Rente, die er als gewerblicher Unternehmer anzustreben hat, wird er aus dem Anbau der Leguminosen nur dann erzielen, wenn er Sorge trägt, daß jedesmal die für die betreffende Art passendsten Bakterien vorhanden sind. Nur dann wird die Knöllchenbildung frühzeitig und rasch von statten gehen, und weiter die Stickstoffsammlung ungehindert und in reichem Maße erfolgen können.

Die Zuführung solcher hoch wirksamen Bakterien kann nun auf dem Wege der absichtlichen und künstlichen Impfung geschehen, und an der Hand einiger Beispiele werden wir zu bestimmen vermögen, wann sie von Nutzen sein kann. Gehen wir von dem einfachsten Falle aus, daß ein Neuland zum ersten Mal Leguminosen tragen soll, so werden hier wahrscheinlich die erforderlichen Bakterien fehlen, und eine Impfung daher Erfolg versprechen. Ueberflüssig wird sie umgekehrt sein, wenn in einer Oertlichkeit seit einer Reihe von Jahren stets nur die gleiche Art der Leguminosen zum Anbau gelangt, da dann die betreffende Varietät des Bacillus radicicola reichlich vertreten sein dürfte. Auch dann wird man kaum etwas von der Impfung erwarten können, wenn mehrere Leguminosen im Wechsel gebaut werden, da wahrscheinlich die von jeder Varietät vorhandenen Bakterien die ausgiebigste Infektion veranlassen werden. Endlich kommt noch der Fall in Betracht, daß dort, wo bisher nur eine oder verschiedene Leguminosen im Wechsel gebaut worden sind, nun eine Art eingeführt werden soll, die einer anderen Gruppe angehört[1]). Hier wird eine Impfung voraussichtlich lohnend sein; allerdings ist ja eine Vertretbarkeit der Bakterien aus Knöllchen von Pflanzen verschiedener Gruppen möglich, aber doch nur in

1) Der Fall der Zugehörigkeit zu einer anderen Unterfamilie kann wohl außer acht gelassen werden, weil er für die praktische Landwirtschaft keine Bedeutung hat.

beschränktem Maße, sodaß eine Höchsternte namentlich im ersten Jahr wohl nur mit Hilfe einer Impfung erzielt werden kann.

Endlich wäre noch die Frage zu erörtern, ob es zweckmäßiger ist, für eine Impfung Impferde oder Reinkulturen von Bakterien zu benutzen. Mit der Anwendung der ersteren sind einmal schon wegen der erforderlichen, nicht unerheblichen Mengen große Unbequemlichkeiten verbunden. Weiter besteht die Gefahr, daß pflanzliche und tierische Schädlinge dem zu impfenden Acker zugeführt werden, und schließlich fehlt die Sicherheit, daß in der Impferde die Bakterien auch in der wirksamsten Form enthalten sind. Alle diese Nachteile werden bei der Anwendung von Reinkulturen vermieden, aber ihre allgemeine Benutzung ist leider für den praktischen Landwirt zur Zeit noch unmöglich. Mit dem bekannten Präparat, dem Nitragin, in welchem die Reinkulturen der Knöllchenbakterien den Landwirten in einer zum Gebrauch fertigen Form angeboten wurden, sind so widersprechende, meist aber ungünstige Erfahrungen[1]) gemacht worden, daß das Vertrauen auf seine Wirkung fast ganz geschwunden ist, und infolgedessen seit ungefähr einem Jahr das Nitragin überhaupt nicht mehr hergestellt wird. Die Erfinder desselben, Nobbe und Hiltner[2]), erklären selbst, daß bei der den „Höchster Farbenwerken" übertragenen Herstellung wohl nicht mit der genügenden Sorgfalt verfahren, namentlich aber nicht das größte Gewicht auf die Gewinnung hochwertiger Bakterien gelegt sei, Fehler, welche natürlich sich in Zukunft würden vermeiden lassen. In einer seiner letzten Veröffentlichungen stellt Hiltner[3]) den Landwirten denn auch ein besonders wirksames Präparat in Aussicht, das aus nach bestimmten Grundsätzen ausgewählten Knöllchen stammen soll. Ob das gelingen wird, läßt sich freilich im Augenblick mit Sicherheit noch nicht sagen.

Fassen wir nun die Ergebnisse dieser Arbeit noch einmal zusammen, so sind sie in Kürze folgende:

1. Die Bakterien der Leguminosenknöllchen gehören sämtlich einer Art, Bacillus radicicola Beijerinck, an.
2. Jedoch sind die aus den Knöllchen einer bestimmten Leguminosenspecies stammenden Bakterien gerade dieser Art scharf angepaßt.
3. Wegen dieser Anpassung an die Art kann eine gegenseitige Vertretung der Bakterien, die aus der Arteinheit abgeleitet werden müßte, nicht ohne weiteres statthaben.

---

1) Kühn, J., Wirkung des Nitragins bei den im landwirtschaftlichen Institut der Universität Halle ausgeführten Versuchen. (Zeitschrift für die Landwirtschaftskammer der Provinz Sachsen. 1896.)

Frank, Die bisher erzielten Ergebnisse der Nitraginimpfung. (Landwirtschaftl. Versuchsst. 1899.)

2) Nobbe und Hiltner, Wie läßt sich die Wirkung des Nitragins erhöhen? (Landw. Versuchsst. 1899.)

3) Mitteilungen der deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft. 1900.

Für den Landwirtschaftsbetrieb ergeben sich folgende Schlüsse:

1) Eine Zuführung angepaßter, daher wirksamer Bakterien durch die Impfung kann in einigen Fällen Nutzen versprechen, und zwar
   a) wenn auf den betreffenden Aeckern überhaupt noch keine Leguminosen zum Anbau gelangt sind,
   b) wenn Leguminosen kultiviert werden sollen, die einer anderen Gruppe im natürlichen System angehören als die zuvor angebauten.
2) Das zu erstrebende Ziel ist, eine solche Impfung mit Reinkultur vorzunehmen. Da aber bislang noch kein fehlerfreies Präparat solcher Reinkulturen existiert, ist der Landwirt auf die Verwendung der Impferde angewiesen.

Ich möchte nicht unterlassen, auch an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Fränkel, für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit und für seinen Rat und seine Anleitung, welche er mir stets während der Ausführung derselben hat zu teil werden lassen, meinen tiefempfundenen Dank auszusprechen.

Notiz über eine Krankheit der Blüten von Tupa Feullei.

Von Prof. Dr. **F. W. Neger,** Eisenach.

Herr Dr. C. Reiche, Chef der botanischen Abteilung des Nationalmuseums zu Santiago de Chile; sandte mir vor kurzem in Alkohol konservierte Proben von kranken Blütentrauben der Tupa Feullei, welche derselbe auf der Insel Mocha ($38^1/_2$ ° s. B.) gesammelt hat.

Die Krankheit besteht darin, daß die Blüten in der Achsel vergrößerter Hochblätter nicht zur vollen Entwickelung gelangen, sondern vielmehr in einem frühen Stadium von einem Pilz zerstört werden.

Die mikroskopische Untersuchung ergab folgendes Resultat:

1) Der die unentwickelten Blüten erfüllende Pilz ist ein Cladosporium — möglicherweise nichts anderes als das weit verbreitete Cladosporium herbarum (von mir auch auf Gerstenblüten in Chile öfter beobachtet). Das Mycel des Pilzes ist im Innern der Pflanze farblos, außerhalb graubraun; die Sporen werden einzeln in verschiedener Höhe an den mäßig langen, conidientragenden Mycelenden abgeschnürt; sie sind 1—2-zellig, selten 3-zellig. Der Pilz wächst mit Vorliebe im Inneren der zahlreichen,

die Blütenknospen auskleidenden Haaren, und hat hier durchaus das Aussehen des Mycels von Dematium pullulans.

2) Oft sind die Kelchblätter der Blüte vollkommen erhalten und nur die inneren Blütenteile (Corolla, Androeceum und Gynoeceum) fallen der Zerstörung anheim.

3) Die Blütenstandsachse ist vollkommen frei von Mycel, was darauf hinweist, daß jede Blüte einzeln infiziert wird und sich die Krankheit nicht durch die Infloresceuzachse von Blüte zu Blüte verbreitet.

4) Neben den vom Pilz befallenen, in eine unförmliche grauschwarze Masse verwandelten Blüten finden sich in gleicher Höhe — also gleichem Alter — durchaus intakte pilzfreie Blüten von gleicher Größe, mit vollkommen erhaltenen, aber auf embryonaler Entwickelungsstufe stehengebliebenen Blütenteilen.

Aus dem ganzen Befund scheint mir unzweifelhaft hervorzugehen, daß der die Blüten bewohnende Pilz nur eine sekundäre Erscheinung ist. Dazu kommt: Nach Mitteilung von Herrn Dr. Reiche ist die Krankheit auf dem Festland niemals, auf der Insel Mocha hingegen sehr oft zu beobachten. Bei der geringen Entfernung der Insel vom Festland ist die Existenz eines auf erstere beschränkten parasitischen Pilzes nahezu ausgeschlossen. Höchst wahrscheinlich ist die Verkümmerung der Blüten vielmehr darauf zurückzuführen, daß die dem trockenwarmen Klima Centralchiles angepaßte Tupa Feullei in dem feuchtkühlen Klima der Insel Mocha sich nur mangelhaft entwickelt und auf den in der Entwickelung stehen gebliebenen Blüten sich der oben beschriebene Pilz sekundär ansiedelt.

Referate.

Behrens, J., Die Arbeit der Bakterien im Boden und Dünger. Neuere Fortschritte in Wirtschaftsbetrieb und Bodenkultur. 13 Vorträge. (Arbeiten der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft. 1901. Heft 64. p. 108—144.)

In seinem Vortrage, dessen Thema aus einem noch wenig angebauten Zweige der Landwirtschaftswissenschaft — nämlich der landwirtschaftlichen Bakteriologie — entnommen ist, weist Behrens zunächst auf die außerordentlich mannigfaltigen und fast unzähligen Beziehungen der Mikroorganismen zum landwirtschaftlichen Betriebe hin. Man mag wohl auch die hierher gehörenden Mikroben unter dem Sammelbegriffe der Gärungsorganismen zusammenfassen und damit in aller Kürze ihre allgemeine Thätigkeit kennzeichnen wollen, denn „wo Stoffe organischer Natur eine so große Rolle spielen, wie in der landwirtschaftlichen Praxis, da ist naturgemäß auch die umwandelnde und zerstörende Thätigkeit der Bakterien, der Schimmel-

und Hefepilze eine bald im günstigen, bald im ungünstigen Sinne tief eingreifende und von der größten Bedeutung". Verf. weist sodann auf die außerordentlich hohe Bedeutung der allgemeinen Bakteriologie hin, sowie auf den immerhin recht ermutigenden Anlauf, den der jüngste Zweig derselben, die landwirtschaftliche Bakteriologie, in letzter Zeit genommen hat. War man doch seit Liebig daran gewöhnt, das wichtigste Arbeitsgebiet der landwirtschaftlichen Bakteriologie, also besonders die Vorgänge im Boden und Dünger, ganz einseitig vom chemischen Standpunkte aus zu behandeln und zu beurteilen. Und gerade auf diesem speziellen Gebiete ist der erste Anlauf, das bislang brachliegende Arbeitsfeld abzubauen, in seinen Ergebnissen außerordentlich ermutigend, unternommen worden: Seine vorläufigen Höhenpunkte sind durch die bekannten denkwürdigen Arbeiten von Hellriegel und die epochemachenden Forschungen Winogradsky's näher gekennzeichnet.

Behrens bespricht nunmehr zunächst die Bodenverhältnisse und geht näher auf den Boden als Träger von Bakterien und anderen Mikroorganismen ein; er weist besonders auf die verschieden große Anzahl von Organismen in den verschiedenen Bodenarten und Bodentiefen hin und erörtert sodann die Organismenflora des Bodens. Dabei mag vielleicht von einem gewissen Interesse, wenn auch zunächst ohne Bedeutung für die Landwirtschaft, eine Organismenart, nämlich die Cladothrix odorifera sein, welche bekanntlich nach Rullmann den Erdgeruch frisch gepflügten Landes hervorruft.

Weiterhin behandelt Behrens in außerordentlich klarer und dabei in vorteilhaft knapper Form die Arbeit der Bakterien im Stallmist, indem er die Arten, soweit sie bekannt sind, und ihre Thätigkeit schildert und dabei auch besonderen Wert auf die von denselben ausgelösten mannigfachen chemischen Prozesse legt.

Im folgenden Abschnitte werden die Beziehungen und die Einwirkung der Bodenbakterien auf den Stalldünger eingehend und übersichtlich erörtert; insbesondere werden die Kapitel über Nitrifikation und Denitrifikation ihrer Wichtigkeit entsprechend behandelt.

Zum Schlusse geht Behrens noch ausführlich auf die Frage der Bindung des freien atmosphärischen N im Boden ein. Er bespricht zunächst die N-Ernährung der Hülsenfrüchte, sodann die event. Aufnahme des freien N durch andere Pflanzen mit Ausschluß der Bakterien, fernerhin die Bindung des freien N durch freilebende Bodenbakterien; endlich äußert sich Behrens noch über die Herstellung und die Wirksamkeit des Impfdüngers, „Alinit".

In seinem Vortrage giebt uns Behrens eine vorzügliche Uebersicht über die wichtigste bisherige Litteratur über die Bakterienfrage im Boden und Dünger, zugleich aber auch manchen

wertvollen Ausblick in Bezug auf die weitere Erforschung und Aufklärung dieser außerordentlich komplizierten Prozesse, wie sie sich infolge von Organismenwirkungen im Dünger und im Boden abspielen. Heinze (Halle a./S.).

Wagner, P., Phosphorsäure-, Kali-, Kalk- und Stickstoffdüngungsfragen. (Arbeiten d. deutsch. Landwirtschaftsgesellschaft: Neuere Fortschritte in Wirtschaftsbetrieb und Bodenkultur. Heft 64. p. 140—166.)

In einem Vortrage, den Wagner bei Gelegenheit des von der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft abgehaltenen vierten Lehrgangs für Wanderlehrer zu Eisenach (11. bis 17. April 1902) gehalten hat und der in den oben erwähnten Arbeiten der D. L.G. H. 64 wiedergegeben ist, werden einige Mitteilungen über diejenigen Fragen der Phosphorsäure-, Kali-, Kalk- und Stickstoffdüngung gemacht, die in den letzten Jahren in den Vordergrund des Interesses getreten sind und welche man durch wissenschaftliche Forschung mehr oder weniger klarzustellen versucht hat.

Verf. kommt zunächst auf das Gebiet der Phosphorsäurefragen zu sprechen, auf die Anwendung von Thomasmehl, Superphosphat und Knochenmehl, die, ein jedes mit besonderen Vorzügen ausgestattet, sich gegenseitig immer noch nicht recht vertragen könnten, und hebt schließlich hervor, daß folgende wichtige Punkte vielfach immer noch nicht genugsam Berücksichtigung finden: 1) Je phosphorsäureärmer und dabei kalkreicher und thonreicher ein Boden, um so eher kann man sich zur Anwendung von Superphosphat entschließen; 2) je phosphorsäurereicher und dabei kalkärmer und thonärmer ein Boden, um so mehr kann auch das Thomasmehl und schließlich auch das Knochenmehl die gleichen Dienste thun. 3) Und weiterhin, je intensiver die Kultur ist, je mehr man die irgend erzielbaren Mehrerträge erhalten will, um so mehr muß man das schnell wirkende Superphosphat zu Hilfe nehmen.

Er bespricht sodann die Kalkfrage und macht unter Mitteilung von eigenen Versuchen, die mit den kurz vorher von Kellner veröffentlichten Versuchen übereinstimmen, ganz besonders darauf aufmerksam, daß man gegebenen Falls immer prüfen müsse, ob nicht mit einer Kalkdüngung eine gesteigerte Phosphorsäuredüngung Hand in Hand gehen müsse, um Rückschläge in den Erträgen zu verhüten. Obendrein ist es unbedingt notwendig, Versuche zur Feststellung des Düngebedürfnisses eines Bodens zum mindesten auf die Dauer einer Fruchtfolge auszudehnen, wenn man sich vor oft schwerwiegenden Irrtümern in den Schlußfolgerungen bewahren will.

Bezüglich der Kalidüngungsfrage muß natürlich in erster Linie die Schwere des Bodens wie auch die Art der Nutzpflanze berücksichtigt werden: Wenn besonders schwere Bodenarten vorliegen, so soll man sich mehr und mehr von der

Kainitdüngung abwenden, um so mehr aber sich dem natronärmeren 40-proz. Kalisalz zuwenden. In ihrem Chlor- und Natronbedarf sind am meisten entgegengesetzt Futterrüben und Kartoffeln. Auch dürfte wohl beispielsweise als zuträglichste Kaliform für Kartoffeln der Stallmist und die Mistjauche gelten, wie man das ja auch in der landwirtschaftlichen Praxis gefunden hat. Weiterhin kommt natürlich für die Wahl des Kalisalzes auch die Jahreszeit, in welcher die Düngung gegeben werden soll, in Betracht und endlich ist auch die Stärke der Kalidüngung nicht außer acht zu lassen.

Weiterhin berührt Wagner noch einige Fragen aus dem Gebiete der N-Düngung und erörtert speziell etwas eingehender die Frage, ob man Wiesen mit Stickstoff düngen soll oder nicht. Auf Grund von mancherlei Betrachtungen und Versuchen, die unter Umständen eine N-Düngung ratsam erscheinen lassen, glaubt Wagner die Frage der Wiesendüngung mit N nicht ganz und gar verneinen zu müssen. So würde vielleicht die N-Düngung das beste Mittel sein, die Wiesen wieder fähig zu machen, stärkere Kaliphosphatdüngungen vollkommen zu verwerten. Möglicherweise könnte es nach ihm auch lohnend sein, der Kaliphosphatdüngung stets etwas Stickstoffdüngung beizufügen, um einen Gleichgewichtszustand zwischen Schmetterlingsblütlern und Gräsern zu sichern. Schließlich äußert sich noch Wagner über die zur Zeit überaus wichtige Frage der Sorge um den Stickstoff. Er weist darauf hin, daß die deutschen Landwirte gegenwärtig für 75 Mill. M. Salpeterstickstoff und für 35 Mill. Ammoniakstickstoff kaufen, um den Stickstoffbedarf der Pflanzen zu decken. Die Salpeterquelle soll bekanntlich nach 30—40 Jahren versiegt sein; die Ammoniakquelle wird indessen fortdauern und vielleicht nach 30—40 Jahren noch reicher fließen als gegenwärtig, aber sie kann den Ausfall nicht decken, denn auch der N-Bedarf wird von Jahr zu Jahr sich steigern.

Noch haben wir aber die so gut wie gar nicht ausgenützte bezw. wenig erforschten ungeheueren N-Mengen der Luft gewissermaßen als Reservedünger zur Verfügung und wenn auch die eingehendere Kenntnis der Assimilation des freien ungebundenen N der Luft durch Mikroorganismen und deren segensreiche Verwertung in der ganzen N-Düngungsfrage erst einer ferneren Zukunft vorbehalten sein mag, so hat uns doch schon jetzt die Chemie nach den vorläufigen Mitteilungen von Wagner ein möglicherweise brauchbares N-Düngungsmittel beschert, und zwar unter Verwertung und Bindung des N der Luft. Es mögen desbalb noch Wagner's eigene Worte über die ganze bedeutsame Frage der Nutzbarmachung des atmosphärischen freien N für die Pflanzenwelt folgen: „Wir schwimmen ja in einem Meer von N; ca. 80 Proz. der atmosphärischen Luft bestehen aus N. Es kommt nur darauf an, ihn chemisch zu binden, und dazu giebt es ja Mittel und Wege. Zunächst werfen wir unsere Hoffnung auf die Bakterien. Die

N-sammelnden Bakterien sind zwar nicht für durchgreifende Arbeit eingenommen, sie geben sich der Ruhe hin, sobald die Schmetterlingsblütler sich anderweit N verschaffen können. Nur wenn Not da ist, nur wenn Hunger nach N eintritt, fangen sie an zu arbeiten. Dr. Hiltner hat sogar gefunden, daß es innerhalb der gleichen Bakterienarten faule und fleißige giebt und daß die Faulheit erblich ist. Er will versuchen, nur die fleißigen zur Nachzucht zu verwenden und die Hülsenfruchtfelder mit diesen zu bevölkern. Auch für die Nichthülsenfrüchte ist es ja nicht ausgeschlossen, daß man ihnen die Beihilfe von Bakterien noch einmal zuwenden kann. Allein wenn diese Art der Bakterien vielleicht noch träger sind, als die Hülsenfruchtbakterien, vielleicht auch nur dann arbeiten, wenn N-Hunger ist, so wird für intensive Kultur nicht viel von ihnen zu erwarten sein. Jedenfalls ist es gut, uns nicht allein auf die Bakterien zu verlassen, um den N der atmosphärischen Luft uns zu nutze zu machen. Wir müssen uns nach anderen Mitteln umsehen, den Luftstickstoff zu binden, womöglich aus dem N der Luft ein N-Düngemittel herstellen. Es ist das auch schon gelungen, allein die Herstellungskosten sind immer noch weitaus zu hoch gewesen, doch es ist wieder mehr Hoffnung da, das Verfahren so weit zu verbilligen, daß es lohnend ist. Jedenfalls ist diese Angelegenheit so weit gediehen, daß man sich schon mit uns in Verbindung gesetzt hat und uns einen neuen aus der Luft gewonnenen N-Dünger zu Versuchen zur Verfügung gestellt hat. Der Dünger besteht aus Kalk, Kohle und N. Er enthält reichlich 20 Proz. N; es fragt sich nur noch, ob die Pflanzen ihn mögen. Vielleicht finden sich Bakterien, die ihn den Nutzpflanzen zubereiten. Mehr kann ich heute noch nicht darüber sagen, aber ich halte die Sache für aussichtsvoll. Ich glaube, daß, wenn die Salpeterquelle versiegt, wir doch nicht in Verlegenheit sein werden. Der chemischen Industrie wird es gelingen, den N der Luft zu binden und zu annehmbaren Preisen zu liefern. Und mehr und mehr werden wir lernen, die Bakterien in den Dienst der Landwirtschaft zu stellen. Es wird unsere Aufgabe sein, gerade so wie unsere Nutztiere, gerade so wie unsere Nutzpflanzen, auch die Bakterien uns nutzbar zu machen. Ich meine, sie haben lange genug ihre Freiheit gehabt; wir müssen sie einfangen und in Zucht nehmen, und wie wir die Pflanzen scheiden in Nutzpflanzen und Unkrautpflanzen, so müssen wir auch die Bakterien scheiden in nützliche und schädliche. Die schädlichen müssen wir vertilgen, die nützlichen aber ernähren und gut pflegen, sie durch Züchtung veredeln, gerade so wie wir unsere Nutzpflanzen, sie da aussäen, wo sie nützen können, mit einem Worte: durch Kultur ähnliches aus ihnen zu machen suchen, als was wir in unseren Nutzpflanzen im Vergleich zu den wildwachsenden, aus denen sie entstanden sind, besitzen. Und mit diesem Ausblick will ich schließen. Sie sehen, es bleibt noch viel übrig, zu forschen und zu arbeiten. So lassen Sie uns die Hände reichen zu gemeinsamer Arbeit in der Erstrebung so schöner und großer Ziele!“

Soweit dem Ref. bekannt ist, liegen neuerdings noch keine weiteren Mitteilungen über dieses neue unter Verwertung des ungebundenen N der Luft gewonnene Düngerpräparat und seine Bedeutung für die Landwirtschaft vor; sollten sich jedoch die bisher gemachten Versuche bestätigen bezw. sich bis dahin weiter ausbauen lassen, daß jenes Präparat entweder direkt als Düngemittel und Nährmittel für die Pflanzen verwertbar ist oder sich erst indirekt im Boden mit Hilfe von Mikroorganismen für die Pflanzen verwerten läßt, so wäre damit der deutschen Landwirtschaft von neuem ein Dienst von außerordentlicher Tragweite erwiesen worden. Bei aller Wichtigkeit und Notwendigkeit, künstliche Düngemittel, insbesondere auch N-Dünger, zu verwenden, sollte man jedoch auch die rein natürliche Düngung nicht vernachlässigen, die vor allem in einer guten Bodenbearbeitung (Entfernung von überschüssigem Wasser; gründlichem Mischen und Wenden der Ackerkrume; Förderung des Zutritts der Atmosphärilien in den Boden durch Tiefkultur und Hackkultur u. a. m.) und damit in erster Linie zugleich in einer Unterstützung und Förderung der ganzen Entwickelung der verborgenen günstig wirkenden Organismenflora des Ackerbodens gipfelt. Heinze (Halle a. S.).

Kraemer, G. und **Spilker, A.,** Das Algenwachs und sein Zusammenhang mit dem Erdöl. (Ber. d. dtsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXV. 1902. p. 1212 ff.)

Eine größere Anzahl von Mooren, Torfen und Schweelkohlen (Pyropissit) sind von den Verff. mit Benzol bezw. Toluol in der Wärme ausgezogen worden; die so erhaltenen Mengen Wachs wurden besonders bestimmt, und zwar bei einigen derselben auch der Schwefel- bezw. Stickstoffgehalt. Weiterhin wurden alle jene genannten Stoffe mikroskopisch untersucht in Bezug auf die in denselben enthaltenen Kieselalgen. Es stellte sich jedoch dabei auffallenderweise der Wachsgehalt als völlig unabhängig von der Zahl der Algen heraus. In den eigentlichen Mooren, welche vorwiegend aus den Resten unter Wasser lebender Organismen zusammengesetzt sind, war der Wachsgehalt relativ am größten. In den Torfen war der durchschnittliche Gehalt entschieden geringer als in den Mooren, außerdem nimmt der Gehalt nach der Tiefe hin in denselben zu. In allen untersuchten Wachssorten wurde Schwefel, wenn auch in sehr wechselnden Mengen, aufgefunden. Die Verff. führen seine Gegenwart auf die oxydierende Thätigkeit der Schwefelbakterien zurück; die letzteren sind ebenfalls maritimen Ursprungs und pflegen als stete Begleiter der Algen aufzutreten. Es bilden jedoch nicht allein die Kieselalgen Wachs, sondern es erfolgt die Wachsbildung auch infolge der Thätigkeit anderer grüner Algen (Ulothrichaceae, Phyllosiphoniaceae, Vaucheriaceae). Die Verff. besprechen alsdann ihre weiteren Versuche zur Ermittelung der Zusammensetzung des Algenwachses und führen des näheren aus, daß man im Erdwachs ein Durchgangspro-

dukt vom Algenwachs zum Erdöl vor sich habe, da die für das Algenwachs typischen Bestandteile, Harz und Ester, auch noch in dem Erdwachs, wenn auch nur in sehr geringen Mengen, anzutreffen wären. Heinze (Halle a. S.).

Guillermond, A., Recherches histologiques sur la sporulation des Schizosaccharomycètes. (C. R. hebdomad. de l'Acad. Sc. Paris. T. CXXXIII. 1901. p. 242.)

Die aus Schiönning's Beobachtungen an Schizosaccharomyces octosporus bekannten Zellfusionen, die der Ascusbildung vorausgehen, wurden vom Verf. auf die am Zellkern sich abspielenden Veränderungen hin untersucht. Der Lösung der Querwand folgt die Verschmelzung der beiden Zellkerne, so daß man von echter Kopulation sprechen darf. Nur selten sah Verf. Ascusbildung ohne vorherige Fusion eintreten.

Aehnliche Vorgänge wie am Schizosaccharomyces octosporus beobachtete Verf. an Sch. Pombe. Die beiden Zellen fusionieren bei dieser Art aber nur unvollkommen miteinander, so daß die beiden Hälften ihre Individualität formal noch bewahren: der Ascus erscheint daher in der Mitte eingeschnürt und oft gleichsam geknickt. Jede Hälfte des Ascus entwickelt zwei Sporen. — Auch für diese Art konstatierte Verf. Kernverschmelzung. Küster (Halle a. S.).

Barker, B. T. P., A conjugating yeast. (Proceedings of the Royal Society. Vol. LXVIII. 1901. p. 345.)

Die vorliegende Arbeit macht mit einer neuen Hefeart bekannt, bei welcher der Sporenbildung Zellfusion und Kernverschmelzung vorausgeht.

Aus gewöhnlicher Bierhefe isolierte Verf. eine Hefeform, die sich auf den verschiedensten Nährmedien kultivieren läßt, Lävulose, Dextrose und Saccharose vergärt und bei der Anwendung der üblichen Methoden zur Sporenbildung sich bringen läßt. Die Zellen bilden dabei einen kurzen „Kopulationsschlauch", die Schläuche von je zwei Zellen vereinigen sich und nach Lösung der trennenden Wand verschmilzt der Inhalt der beiden Zellen. Einige Stunden später zieht sich das Plasma in die beiden Hälften der Zellenvereinigung zurück und die Sporenbildung tritt ein. Das Verhalten der Zellkerne spricht für die Annahme eines Sexualaktes. An den Enden der „Kogulationsschläuche" sah Verf. je einen stark färbbaren Körper liegen. Die beiden Gebilde vereinigen sich nach der Fusion miteinander, der neugebildete Zellenkörper teilt sich dann von neuem. Das Temperaturoptimum für die Sporenbildung liegt zwischen 25° und 30° C. Aber auch bei 36—37° C und bei 13—15° tritt noch Sporenbildung ein. Verf. schlägt für die von ihm beobachtete Hefe den Namen Zygosaccharomyces vor.

In alten Kulturen beobachtete Verf. häufig Zellen, die Kopulationsschläuche gebildet hatten, ohne zur Zellfusion und zur Sporenbildung fortzuschreiten. Küster (Halle a. S.).

Tarchanoff, J., Lumière des bacilles phosphorescents de la mer Baltique. (C. R. hebdom. de l'Acad. d. Sc. T. CXXXIII. 1901. p. 246.)

Neben den bekannten Beziehungen des Bakterienleuchtens für Atmung bespricht Verf. folgende Eigenschaften der von ihm untersuchten Mikroorganismen.

Der Kälte widerstehen die Leuchtbakterien besser als der Hitze. Ihr Temperaturoptimum liegt bei 7°. Sie leuchten noch bis —4°, zum Teil sogar noch bei —6 und —7° in gefrorener Nährbouillon, bewahren also im Eis noch ihr aktives Leben. Nach einigen Stunden hört im Eis das Leuchten auf, beginnt aber nach dem Auftauen von neuem. Bei +34 bis +37° erlischt ebenfalls ihr Leuchten; bei +50° erlischt das Leuchten, ohne beim Abkühlen wieder einzutreten.

Tageslicht scheint störend auf die Leuchtbakterien zu wirken.

Alkohol, Aether, Chloroformwasser stören ebenfalls, Strychnin und Curare sind ohne Wirkung; 2-proz. Kaliumcyanat, Bittermandelwasser, Kohlensäure machen dem Leuchten ein Ende. Unter Einwirkung des elektrischen Stromes sieht man die leuchtende Substanz am negativen Pol sich anhäufen, schließlich erlischt daselbst das Leuchten. Küster (Halle a. S.).

Ruhland, W., Untersuchungen zu einer Morphologie der stromabildenden Sphaeriales auf entwickelungsgeschichtlicher Grundlage. (Hedwigia. 1900.)

Die entwickelungsgeschichtlichen Untersuchungen über die Pyrenomyceten haben bisher vorzugsweise das Vorkommen und den Zusammenhang der Nebenfruchtformen und den Nachweis eines Sexualvorgangs vor der Perithecienbildung zum Ziele gehabt. Andere morphologische Fragen sind dabei zu kurz gekommen. Es gehört dahin vor allem der Begriff des Stromas, dessen entwickelungsgeschichtlicher Ursprung und dessen Beziehungen zu den Conidienlagern einer genauen Prüfung noch nicht unterzogen worden ist. „Es werden bisher alle Spuren der Anwesenheit des Pilzes, die sich im Substrat in der Nähe der Perithecien bemerkbar machen, ob sie nun in Membranschwärzungen, funktionslos gewordenen Conidienlagern, Mycelansammlungen oder Grenzsäumen bestehen, kurz die heterogensten Bildungen der verschiedensten Familien schlechtweg als Stroma bezeichnet.“

Der Verf. schildert den Entwickelungsgang des Stromas zunächst bei einer Art, die hierin den höchsten Grad der morphologischen Gliederung erreicht hat, bei Diatrype disciformis Fries. Wenn das Gewebe des Wirtes durchwuchert und abgestorben ist, tritt der Pilz aus dem Holz in die Rinde über. Dort findet man nach einiger Zeit eine reichliche Mycelmasse im Parenchym über dem Cambium, die der Ernährung dient. Von hier aus gehen einzelne Hyphenbüschel weiter nach außen durch die tangentiale Sklerenchymschicht oder durch die Markstrahlen hindurch und sammeln sich zu einem Mycel in den Schichten, die unmittelbar unter dem Periderm liegen. Hier wird jetzt eine aus

eng verflochtenen Hyphen bestehende Kuppe gebildet, die beim weiteren Wachstum mit ihrer Spitze das Periderm durchbricht. Während des Emporwachsens werden an den unteren Abhängen dieses Kegels reichlich Conidien abgeschnürt. Nach der Sprengung des Periderms schwärzen sich die Hyphen und sterben allmählich ab.

In dem darunterliegenden Rindenparenchym sind schon lange vor der Reife der Kuppe Hyphen erschienen, die zunächst ein lockeres Geflecht bilden. Das neue Mycel bleibt immer durch einige Reihen von Parenchymzellen von dem Gewebe der Kuppe getrennt. In diesem inneren Stroma entstehen die Perithecien. Die Woronin'sche Hyphe ist immer deutlich erkennbar, eine Trichogyne wird, soviel der Verf. erkennen konnte, nicht angelegt. Von der Hüllschicht der Perithecien aus wachsen Paraphysen in das Innere, die Woronin'sche Hyphe verfällt dann der Desorganisation, und die Asci bilden sich im Innern. Gleichzeitig haben sich die oberen Teile der Perithecien zu einem Tubulus verlängert.

Die darüberliegende Kuppe, die das Periderm gesprengt hatte, ist inzwischen ganz abgestorben, und ihre Verbindung mit den Rindenzellen ist so gelockert, daß sie abfällt. Die Oberfläche des inneren Stromas mit den Mündungen der Perithecien liegt jetzt frei als eine breite Warze. Die obersten Hyphen werden zu einer Rindenschicht umgewandelt, die an der Luft schwarz wird.

Das Stroma besteht hier also aus zwei getrennten übereinander liegenden Schichten. Die oberste nennt der Verf. Ektostroma. Seine Aufgabe besteht bei Diatrype in der Abschnürung von Conidien und der Sprengung des Periderms. Unter ihm liegt das Entostroma, das zunächst das Rindenparenchym resorbiert und dann die Perithecien bildet. Die reife Fruchtscheibe besteht nur aus dem Entostroma.

Bei den Arten der Gattung Diaporthe ist die Entwickelung ähnlich. Nur bringt das Ektostroma nicht ein offenes Conidienlager hervor, sondern eine große Pyknide. Nach der Beendigung der Conidienerzeugung wird das Ektostroma größtenteils abgeworfen, aber einzelne seiner Teile am Grunde sterben nicht völlig ab, sondern werden von den hier ziemlich langen Hälsen der Perithecien durchwachsen. Es werden also ektostromatische Bestandteile für den Aufbau des Fruchtkörpers verwandt.

Bei den Arten von Cryptospora ist das Ektostroma oft sehr reduziert. Bei manchen Arten kommt es vor, daß gar keine Pyknide darin angelegt wird. In solchen Fällen wird das Ektostroma gar nicht abgestoßen, sondern ebenfalls von den Tubuli der Perithecien durchwachsen. Die Art Cryptospora chondrospora Rehm erhebt der Verf. zum Typus einer neuen Gattung Aplacodina; hier ist auch das Entostroma so zurückgebildet, daß jedes Perithecium für sich mit seinem kurzen Tubulus das Periderm löst. Eine gemeinschaftliche Mündungsscheibe ist nicht mehr vorhanden.

Diese Uebergangsformen führen zu denjenigen Arten, bei denen das Ektostroma stets und gesetzmäßig zum Aufbau des

Fruchtkörpers in Anspruch genommen wird. Bei Melanconis stilbostoma erzeugt das Ektostroma zunächst auf seiner Oberfläche Conidien, bleibt dann aber mycelartig. Die Perithecien des Entostromas, die sehr lange Hälse haben, dringen durch die Rindenzellen zwischen beiden Stromaschichten und durch das Entostroma.

Bei der Gattung Valsa wird der Bau dadurch noch verwickelter, daß die Conidien in großen, aus mehreren Pykniden zusammengesetzten Fruchtkörpern erzeugt werden. Die Perithecien werden diesen ganz ähnlich angelegt, entstehen zwar im Entostroma, verwenden aber für den Bau des Fruchtkörpers in ausgedehntem Maße das Ektostroma.

Der Verf. führt für die Mündungsscheibe der Perithecien den neuen Namen Placodium ein. Alle bisher aufgezählten Formen faßt er zu dem Typus der diplostromatischen Entwickelung zusammen und unterscheidet darin den entoplacodialen (Diatrype, Diaporthe) und den ektoplacodialen (Melanconis, Valsa) Formenkreis.

Dieser ganzen Gruppe steht der Typus der haplostromatischen Entwickelung gegenüber. Bei Pseudovalsa lanciformis ist nur ein Ektostroma vorhanden. Dieses bildet zunächst auf seiner Oberfläche Conidien und legt dann an seinem Grunde die Perithecien an, denen durch Verschleimung der Hyphen an gewissen Stellen der Weg zur Oberfläche geöffnet wird. Aehnlich verhalten sich die Gattungen Botryosphaeria und Valsaria. Nur ein Ektostroma bildet auch die Familie der Xylariaceen aus. Es tritt aber frei aus dem Substrat heraus und vergrößert durch reiche Gliederung die Oberfläche, um die Sporen dem Wind darzubieten.

Schließlich unterscheidet der Verf. noch einen dritten Typus, den des Protostromas. Bei den hierher gehörigen Formen ist das Stroma so wenig ausgebildet, daß man es auch als Mycel bezeichnen und davon nicht unterscheiden kann. Bei Valsa myriocarpa z. B. erscheint unter dem Periderm ein Mycelium, das die äußerste Zellschicht zerstört und das Periderm dadurch zum Abblättern bringt. Dieses Protostroma sendet dann Hyphen nach innen. Hier werden die Perithecien angelegt, die sich durch die Resorptionsfähigkeit ihrer äußeren Hyphen selbst den nötigen Rnum und den Zugang nach außen schaffen. An anderen Stellen legt das Protostroma mehrere getrennte Pykniden an, nachdem unmittelbar darüber ebenfalls das Periderm losgelöst ist.

Ueber die systematische Stellung einzelner Gattungen, über die Zugehörigkeit und Ausbildungsweise verschiedener Nebenfruchtformen und über die Veränderlichkeit mancher Arten unter wechselnden Bedingungen sind in der Arbeit noch zahlreiche Beobachtungen wiedergegeben. Hier kann darauf nicht eingegangen werden.

Jahn (Berlin).

Heinricher, E., Notiz über das Vorkommen eines Brandpilzes aus der Gattung Entyloma auf Tozzia alpina L. (Ber. der deutschen bot. Gesellsch. Bd. XIX. p. 362—366. Mit 2 Holzschn.)

Verf. fand in Tirol auf Tozzia alpina L. einen Pilz, der sich als eine Entyloma-Art erwies. Derselbe verursacht kaum sichtbare Flecken und Anfänge einer schwachen Vorwölbung nach der einen oder anderen Seite. Verf. bezeichnet den Pilz vorläufig als Entyloma Tozziae, da auf dieser Wirtspflanze ein Entyloma noch nicht bekannt ist, läßt aber die Frage offen, ob sein Pilz nicht etwa identisch ist mit einem auf Ranunculus-Arten schmarotzenden Entyloma, was nicht ausgeschlossen ist, da Ranunculus lanuginosus der Tozzia alpina häufig als Wirt dient. Neger (München).

Freeman, E. M., A preliminary list of Minnesota Uredineae. (Minnesota Bot. Studies. Ser. II. Part V. 1901. Minneapolis, Minn. p. 537—560.)

Das Verzeichnis der Rostpilze aus dem Staate Minnesota umfaßt folgende Arten:

I. Melampsoraceae.

Chrysomyxa pirolatum (Koern.) Wint. auf Pirola rotundifolia, P. elliptica, P. secunda.

Cronartium asclepiadeum (Wills.) Fr. var. Quercuum Bol. C.

Coleosporium Sonchi arvensis (P.) Wint. auf Solidago serotina, S. canadensis, S. flexicaulis, S. sp., Laciniaria sp., Aster divaricatus, A. macrophyllus, A. sp., Doellingeria umbellata.

Melampsora Epilobii (P.) Fehl. auf Epilobium coloratum, E. lineare, E. sp.

M. populina (Jacq.) auf Populus tremuloides, P. deltoides.

M. Salicis Capreae (P.) Wint. auf Salix discolor, S. myrtilloides, S. sp.

Calyptospora Goeppertiana Kühn auf Vaccinium vitis idaea.

II. Pucciniaceae.

1. Uromyces.

A. Aut-euuromyces.

U. Fabae (P.) De By. auf Vicia linearis, V. americana, V. sp., Lathyrus venosus, L. sp.

U. appendiculatus (P.) Link auf Strophostyles helvola (L.) Britton.

U. albus Dict. et Holw. auf Vicia americana.

U. Trifolii (Alb. et Schr.) auf Trifolium repens.

U. Euphorbiae Cooke et Peck auf Euph. maculata, E. serpyllifolia, E. heterophylla, E. marginata, E. glyptosperma, E. sp.

U. Polygoni (P.) Fkl. auf Polygonum aviculare, P. ramosissimum, P. sp.

U. Caladii (Schw.) Farlow auf Arisaema triphyllum.

B. Hemiuromyces.

U. Lespedezae (Schw.) Pk. auf Lespedeza capitata.

U. Hedysari papiculati auf Meibomia sp.

U. Terebinthi (DC.) Wint. auf Rhus radicans.

U. caryophyllinus (Schrank) Schroet. auf Dianthus caryophyllus.

C. Unbekannte Entwickelung.

U. argophyllae Seym. auf Psoralea argophylla Pursh.

U. pyriformis Cooke auf Acorus calamus L.

U. Rudbeckiae Arth. et Holw. auf Rudbeckia laciniata.

2. Puccinia.

A. Aut-eupuccinia.

Puccinia Adoxae Hedw. auf Adoxa moschatellina.
P. Calthae Lk. auf Caltha palustris.
P. Convolvuli (P.) Cast. auf Convolvulus sepium, C. spithamaeus.
P. Galii (P.) Schw. auf Galium asprellum, G. concinnum.
P. Gentianae (Str.) Lk. auf Gentiana Andrewsii, G. puberula.
P. Pimpinellae (Str.) Lk. auf Washingtonia Claytoni.
P. Violae (Schum.) DC. auf Viola canadensis, V. blanda, V. scabriuscula, V. sp.
P. Menthae americanae Burrill. auf Monarda fistulosa, Koellia virginiana, Mentha canadensis, M. sp.
P. Tanaceti DC. auf Artemisia dracunculoides Pursh., Heliopsis helianthoides, Helianthus grosse serratus, H. tuberosus, H. giganteus, H. annuus, H. sp.
P. Chondrillae Cord. auf Lactuca pulchella, L. sp.

B. Hetereupuccinia.

P. angustata Peck II, III und Scirpus atrovirens und Lycopus virginicus.
P. Caricis (Schum.) Rebent. auf Carex castanea, C. utriculosa etc., Urtica gracilis etc.
P. Phragmitis (Schum.) Koern. auf Rumex britannicus, Phragmites phragmites.
P. Rhamni (P.) Wettst. auf Avena sativa, Rhamnus alnifolia.
P. poculiformis (Jacq.) Wett. auf Avena sativa etc.
P. rubigo vera (DC.) Wint. auf Triticum vulgare, Hordeum vulgare.

C. Brachypuccinia.

P. Hieracii (Schum.) Mart. auf Hieracium canadense, Carduus sp.
P. Taraxaci Plowright auf Taraxacum off.

D. Pucciniopsis.

P. Grossulariae (Cjm.) Wint. auf Ribes rubrum.
P. Podophylli Schwein. auf Podophyllum peltatum.

E. Hemipuccinia.

P. Polygoni amphibii P. auf Polygonum amphibium, P. Hartwigi, P. emersum etc.
P. argentata (Schultz) Wint. auf Impatiens biflora.
P. Pruni spinosae Pers. auf Prunus pumila.
P. Kuhniae Schwein. auf Kuhnia eupatorioides.
P. tomipara Trel. auf Bromus ciliatus.
P. Sorghi Schwein. auf Zea Mays, Sorghum sp.
P. emaculata Schwein. auf Panicum capillare.

F. Micropuccinia.

P. Thalictri Chev. auf Thalictrum sp.

G. Leptopuccinia.

P. Asteris Duby auf Aster macrophyllus, M. sagittifolius etc.
P. Circaeae Pers. auf Circaea Lutetiana, C. alpina etc.
P. ornata Arth. et Holw. auf Rumex britannica etc.

H. Unvollständig bekannte Arten.

P. variolans Hark. auf Eriocarpum spinulosum.
P. Nardosmiae E. et E. auf Petasites palmata.
P. porphyrogenita Curt. auf Cornus canadensis.
P. Hydrophylli Peck. et Clint. auf Hydrophyllum virginicum.
P. Tiarellae B. et C. auf Mitella nuda.
P. Haleniae Arth. et Holw. auf Tetragonanthus deflexas.

P. mesomegala B. et C. auf Clintonia borealis.
P. Xanthii Schwein. auf Xanthium canadense, Ambrosia trifida.

Gymnoconia.

Gymnoconia interstitialis (Schlecht.) Lagerh. (Caeoma nitens Schwein. und Puccinia Peckiana Howe) auf Rubus strigosus, R. canadensis, R. villosus etc.

Uropyxis Amorphae (Curt.) Schroet. auf Amorpha fruticosa.

Gymnosporangium.

G. globosum Farl. auf Juniperus virginiana.
G. nidus avis Thaxt. auf J. virginiana.
G. clavariaeforme (Jacq.) Reess. auf J. communis.
G. Juniperi virginianae Schw. auf J. virginiana.

Phragmidium.

Ph. Potentillae (P.) Karst. auf Potentilla pennsylvanica strigosa.
Ph. Rubi Idei Karst. auf Rubus strigosus, R. hispidus etc.
Ph. speciosum Fr. auf Rosa sp.
Ph. subcorticium (Schrank) Wint. auf Rosa acicularis, R. blanda etc.
Triphragmium clavellosum Berk. auf Aralia nudicaulis.
Aecidium Uvulariae Schwein. auf Uvularia perfoliata, U. grandiflora, U. sessilifolia.
Ae. Iridis Ger. auf Iris versicolor.
Ae. Convallariae Schum. auf Lilium canadense, Polygonatum commutatum, P. sp.
Ae. Orobi Pers. auf Falcata comosa, Apios apios.
Ae. Lupini Peck. auf Lupinus perennis.
Ae. Thalictri flavi (DC.) Wint. auf Thalictrum dioicum, Th. purpurascens.
Ae. Ranunculacearum DC. auf Anemone canadensis, A. quinquefolium, Ranunculus abortivus.
Ae. punctatum Pers. auf Thalictrum dioicum.
Ae. Actaeae Opiz. auf Actaea alba.
Ae. cimicifugatum Schwein. auf Actaea sp.
Ae. Clematidis DC. auf Clematis virginiana.
Ae. Fumariacearum Kell. et Swingle auf Bicuculla cucullaria.
Ae. Geranii DC. auf Geranium maculatum.
Ae. Impatientis Schwein. auf Impatiens biflora etc.
Ae. Verbenae Speg. auf Verbena stricta.
Ae. Jacobaeae Grev. auf Senecio aureus L.
Ae. Compositarum Mart. auf Hieracium canadense, Andropogon virginianum.
  Var. Erigerontis Wint. auf Erigeron annuus.
  Var. Prenanthis (P.) Wallr. auf Nabalus sp.
  Var. Lactucae Burrill. auf Lactuca canadensis, L. Ludoviciana etc.
  Var. Liatrii Webber auf Laciniaria sp.
  Var. Helianthi Burrill auf Helianthus divaricatus etc.
  Var. Eupatorii (Schw.) Burrill auf Eupatorium purpureum, E. perfoliatum, euageratioides.
Ae. Asterum Schw. auf Solidago flexicaulis, S. serotina etc., Aster sagittifolius etc., Euthamia graminifolia.
Ae. pustulatum Curt. auf Comandra umbellata.
Ae. Jamesianum Peck. auf Asclepias syriaca, A. tuberosa, Acerates viridiflora.
Ae. Lysimachiae (Schl.) Wallr. auf Steironema ciliatum.
Ae. Grossulariae Pers. auf Ribes gracile, R. floridum, R. Cynosbati etc.
Ae. hydnoideum B. et C. auf Dirca palustris.

Ae. Hydrophylli Peck. auf Hydrophyllum virginicum.
Ae. Pammelii Trel. auf Euphorbia corollata.
Ae. Peckii De Toni auf Onagra biennis.
Ae. Phrymae Halst. auf Phryma leptostachya.
Ae. Fraxini Schwein. auf Fraxinus americana etc.
Peridermium balsameum Pk. auf Abies balsamea, P. abietinum (A. et S.) Thüm. auf Picea Mariana.
Uredo Polypodii (P.) DC. auf Cystopteris fragilis, U. Agrimoniae Eupatoriae (DC.) Wint. auf Agrimonia hirsuta.

Ludwig (Greiz).

v. Jaczewski, A., Exoasci aus dem Kaukasus. (Bulletin du Jardin Imp. Botanique de St. Pétersbourg. Livr. I. 1901. p. 1—13, mit 5 Textfiguren). [Russisch mit franz. Résumé.]

Der Verf. hatte Gelegenheit, während seiner Forschungsreisen im Kaukasus die interessante Pilzgruppe der Exoasci zu beobachten und zu sammeln. Da die Exoasci in Rußland überhaupt noch fast unbekannt sind, so giebt der Verf. ein Verzeichnis der von ihm bis jetzt im Kaukasus gefundenen 33 Arten:

Endomyces decipiens (Tul.), E. vernalis Ludw., Magnusii Ludw., E. parasiticus Fayod, Exoascus Pruni Fuckel, E. Rostrupianus Sad., E. Insititiae Sad., E. Cerasi Fckl., E. deformans Fckl., E. Crataegi Sad., E. Tosquinetii Sad., E. epiphyllus Sad., E. turgidus Sad., E. betulinus Sad., E. Carpini Rostr., E. amentorum Sad., E. confusus sp. nov., Taphrina bullata Tul., T. Ostryae Mass., T. Sadebeckii Joh. T. aurea Fr., T. Johansonii Sad., T. rhizophora Joh., T. filicina Rostr., T. polyspora (Sorokin) Joh., T. coerulescens Tul., J. Betulae Joh., T. carnea Joh., T. Ulmi Joh., T. Celtis Sad., Magnusiella Potentillae Sad., M. Githaginis Sad., M. Umbelliferarum Sad.

Eine Art, Exoascus confusus Jacz., ist als neu beschrieben. Sie wurde in Kachetien auf Blättern und Zweigen von Acer campestre gefunden. F. Bucholtz (Riga).

Aderhold, R., Ein der Moniliakrankheit ähnlicher Krankheitsfall an einem Sauerkirschbaume. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. XI. Heft 2/3. p. 65—73. Tab. II.)

Verf. beobachtete in den Jahren 1898 und 99 an einem Weichselbaume eine Erkrankung der Blüten, welche zur völligen Verhinderung des Fruchtansatzes führte. Die Untersuchung zeigte, daß nicht Monilia, sondern ein Fusarium der Urheber dieser Erkrankung sei. Schon die äußere Erscheinung deutete übrigens darauf hin, denn es fehlten an dem erkrankten Baume die für Monilia so charakteristischen vertrockneten Blattbüschel und auch ein Uebergehen des Pilzes von den Blütenständen auf die Zweige fand nicht statt. Da ein Fusarium, das ähnliche Erscheinungen hervorruft, nicht bekannt ist, dasselbe sich auch von den auf Prunus-Arten sonst vorkommenden unterscheidet, beschreibt es A. als F. gemmiperda.

Infektionsversuche haben ergeben, daß F. gemmiperda nur bei großer Luftfeuchtigkeit im Stande ist, parasitisch auf Kirschblüten zu wachsen. Die künstlich hervorgerufenen Erscheinungen gleichen den beobachteten völlig. Es liegt also hier ein Fall vor,

aus dem hervorgeht, daß das Auftreten der Krankheit abhängig von sehr feuchter Witterung ist. Dieser Anschauung entsprach auch die Thatsache, daß Blütenzweige von dem früher erkrankten Baume, die im Jahre 1900 die Knospenverderbnis im Freien nicht hatten, in die feuchte Kammer gebracht, sehr bald von der Krankheit ergriffen werden. Appel (Charlottenburg).

Herget, Franz, Ueber einige durch Cystopus candidus an Cruciferen hervorgerufene Mißbildungen, welche in der Umgebung von Steyr gefunden wurden. (XXXI. Jahresbericht der k. k. Staatsoberrealschule in Steyr fürs Schuljahr 1900/01. Steyr 1901. 8°. p. 3—29. Mit 2 Taf.)

Verf. beschreibt ausführlich die von Cystopus candidus auf Raphanus Raphanistrum und auf Sinapis arvensis hervorgerufenen Hypertrophieen, bildet sie ab und erläutert namentlich die Veränderungen, welche der Pilz im anatomischen Bau seiner Nährpflanze hervorbringt.

Berücksichtigt werden außer den schon genannten 2 Species noch Capsella bursa pastoris, Sisymbryum officinale, Neslia paniculata und Thlaspi arvense. Verf. gelangt zu folgenden Resultaten:

Der Pilz verursacht eine Vergrößerung und Vermehrung der Zellen der befallenen Organe, wodurch ansehnliche Vergrößerungen und Verdickungen derselben hervorgebracht werden, ferner eine Bildung accessorischer Gefäßbündel (im Stengel, Fruchtknoten, in den Blumenblättern), eine Vermehrung der Zahl von Spaltöffnungen, womit eine lebhaftere Transpiration und wahrscheinlich auch, wie es Böhm von den mit Phytophthora infestans inficirten Kartoffelknollen nachgewiesen hat, eine lebhafte Respiration und Assimilation verbunden ist, weiters eine Verminderung in der Verdickung der Zellwände, eine verminderte Entwickelung oder Unterdrückung der mechanischen Elemente (Hartbast, Festigungsring, collenchymatische Verdickungen, Cuticularisierung der Epidermiszellen), eine Verminderung in der Entwickelung sekundärer Gewebe (Interfascicularcambium, Festigungsring), dann eine Unterdrückung oder doch Verkümmerung von Organen, Geweben oder Zellen, die mit der Bestäubung, Befruchtung, Vermehrung, Ausstreuung und dem Schutze der Samen zusammenhängen (fibröse Zellen der Antheren, Pollen, Narbe, Leitgewebe des Griffels, Hartschichte, Samenknospen), ein Unterbleiben oder doch eine schwächere Ausprägung der Differenzierung der Blattgewebe und schließlich verursacht der Pilz eine vermehrte Chlorophyllentwickelung und Stärkebildung (Vergrünung der Blumenblätter und Staubgefäße, Vermehrung der chlorophyllhaltigen Schichten). — Es erinnern also die Hypertrophieen in den Abweichungen vom anatomischen Bau der gesunden Teile in manchen Beziehungen an die Hexenbesen, Fruchtkuchen, in anderen an etiolierte Pflanzen (Vergrößerung und Dünnwandigkeit der Zellen) und an durch Tiere erzeugte Gallen. Verf. weist ferner nach, daß der Pilz an feuchten und schattigen Orten sich stärker ausbreitet, da die Zellen der Pflanzen

dünnwandiger an solchen Stellen bleiben und dem Eindringen der Haustorien und der Ausbreitung des Myceliums geringen Widerstand entgegensetzen und da auch in der Feuchtigkeit die Bildung und Keimung der Schwärmsporen leichter vor sich gehe. Nachdem Verf. auch alle Wirtspflanzen (auch Kulturpflanzen und Nichtcruciferen) angiebt, führt er Vorbeugungs- und Bekämpfungsmittel an (entsprechender Fruchtwechsel, Verbrennen der befallenen Individuen, Trockenlegung von nassen Feldern und Anwendung von Fungiciden). Verf. macht noch darauf aufmerksam, daß oft mitten zwischen inficirten Individuen sich andere Cruciferenspecies befinden können, die sonderbarer Weise vom Pilze nicht befallen werden, und zählt gelegentlich auch zufällige Variationen oder Mutationen (Albinos etc.) aus der Umgebung von Steyr auf.

Matouschek (Reichenberg i. B.).

Johnson, W., Notes upon the destructive green pea louse (Nectarophora destructor Johns. for 1900). (U. S. Dept. of Agric. Div. of Entom. Bull. No. 26. New. Ser. 1900. p. 55–59. Pl. I—II.)

Die Aphide Nectarophora destructor wurde vom Verf. zum ersten Male 1899 entdeckt; sie ist seitdem von Canada bis Nord-Carolina und Ohio schädlich aufgetreten und zwar gilt sie für endemischen Ursprungs. Die ursprüngliche Nährpflanze ist wahrscheinlich der Rotklee, von dem aus sie mit dem wachsenden Anbau von Inkarnatklee und Erbsen auch auf diese ihre Angriffe erstreckte. Man kennt bisher keine Männchen dieser Art, wohl aber geflügelte und flügellose Weibchenformen, welche lebendige Junge von einer höchstens 10—14-tägigen Entwickelungsdauer hervorbringen. Der von der Erbsenlaus angerichtete Schaden ist ungeheuer; er betrug 1899 in den atlantischen Staaten ungefähr 3 Mill. Dollar, während für 1900 ein Ernteausfall an den hauptsächlich zu Konserven bestimmten Erbsen von $^{2}/_{3}$ des bisherigen Ertrages befürchtet wurde. Glücklicher Weise ist eine wirksame Vertilgungsmethode aufgefunden worden, durch die große sehr gefährdete Flächen gerettet wurden. Man läßt nämlich zwischen den mit 24—30 Zoll Abstand stehenden Erbsenreihen Cultivatoren durchgehen, während der Lenker mittelst einer starken Gerte die Pflanzen gegen die Schare desselben schlägt, so daß die Blattläuse abgeklopft und zugeschüttet werden. Das Verfahren darf nicht vor dem dritten Tage wiederholt werden. Bespritzungen der Schädlinge mit chemischen Mitteln hatten keinerlei nennenswerten Erfolg. Aus dem Umstande, daß außerordentlich große Mengen der Läuse von Empusa aphidis vernichtet wurden, schließt Verf., daß die Nectarophora-Gefahr ihren Höhepunkt bereits überschritten habe. Jacobi (Berlin).

Howard, L., Beneficial work of Hyperaspis signata. (U. S. Dept. of Agric. Div. of Entom. Bull. No. 26, New Ser. 1900. p. 17—18. Fig. 1.)

Die Coccinellide Hyperaspis signata erwies sich in Texas als eifriger Vertilger von Pulvinaria acericola, während ihre Larve nicht nur die Eier dieser Art vertilgt, sondern auch die Wollläuse angreift. Jacobi (Berlin).

Howard, L., Establishment of a new beneficial insect in California. (U. S. Dept. of Agric., Div. of Entom., Bull. No. 26, new ser. 1900. p. 16—17).

Der ursprünglich auf Ceylon in Lecanium coffeae schmarotzende Chalcidier Scatellista cyanea wurde nach einem mißglückten Versuche, ihn aus Italien nach den Vereinigten Staaten zu übertragen, im Kaplande auf Lecanium Oleae schmarotzend gefunden und erfolgreich in der Gegend von San José in Kalifornien angesiedelt. Den ebenfalls mitgewanderten eigenen Parasiten der Schlupfwespe (Tetrastichus sp.) konnte man rechtzeitig isolieren. Jacobi (Berlin).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Eschbaum, F., Krystallinische Ausscheidungen in Nährböden. (Ber. d. deutschen pharmaceut. Gesellsch. Bd. XII. 1902. p. 177.)

Man beobachtet in Nährböden — und zwar in Agarabkochungen mit den üblichen Zusätzen von Natriumkarbonat und Kochsalz — größere oder kleinere Mengen von ausgeschiedenen Krystallen. Nach dem Verf. soll man es hierbei mit krystallinischen Ausscheidungen von Tripelphosphat zu thun haben. Die Entstehung dieses Phosphates, und zwar des Ammoniummagnesiumphosphat ($MgNH_4PO_4$) geht aller Wahrscheinlichkeit nach infolge der Lebensthätigkeit von Bakterien vor sich, indem nämlich bei deren Entwickelung die Eiweißkörper des Agar-Agar zerstört und unter anderen als Spaltungsprodukte Phosphorsäure und Ammoniak frei werden, welche alsdann mit der im Agar-Agar vorhandenen Magnesia die oben erwähnte Verbindung bilden.

Heinze (Halle a. S.).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Buchner, E. und **Spitta, H.**, Zymasebildung in der Hefe. (Ber. d. dtsch. chem. Gesellsch. 1902. No. 9. p. 1703—1706.)

Coutière, H., Sur un type nouveau de Rhizocéphale, parasite des Alpheidae. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 16. p. 913—915.)

Doflein, F., Das System der Protozoen. (Arch. f. Protistenkunde Bd. I. 1902. Heft 1. p. 169—192.)

Hennings, P., Fungi javanici novi a cl. Prof. Dr. Zimmermann collecti. (Hedwigia. 1902. Heft 3. p. 140—144.)

Hertwig, R., Die Protozoen und die Zelltheorie. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902. Heft 1. p. 1—40.)

Laveran, A. et **Mesnil, F.,** Sur la multiplication des myxosporidies. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 15. p. 469—472.)

Léger, L., Sur la structure et le mode de multiplication des flagellés du genre Herpetomonas Kent. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 12. p. 398—400.)

v. Linstow, Beobachtungen an neuen und bekannten Nemathelminthen. (Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. LX. 1902. Heft 2. p. 217—232.)

Lochhead, W., Nature study lessons on mosquitoes. (32. ann. rep. of the entomol. soc. of Ontario 1901. Toronto 1902. p. 94—98.)

Lohoff, Cysticercus inermis mit 6 Saugnäpfen. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1901/2. Heft 8. p. 241.)

Massee, G., Coprophilous or dung fungi. (Journ. of the Quckett microsc. club. Vol. VIII. 1902. p. 253—260.)

Thon, K., Ueber eine neue parasitische Atax-Art aus Texas. (Annal. d. k. k. naturhistor. Hofmuseums. Bd. XVI. 1901. No. 1/2. p. 30—35.)

Wille, N., Ueber Gasvakuolen bei einer Bakterie. (Biolog. Centralbl. 1902. No. 9. p. 257—262.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Bordas, Analyse bactériologique des eaux potables. (Journ. de pharm. et de chimie. 1902. No. 9. p. 431—433.)

Reynaud, G., Sterilisation de l'eau par la solution bromée (procédé de Schumburg). (Annal. d'hyg. et de méd. colon. 1902. No. 2. p. 214—221.)

v. Rigler, G., Die Bakterienflora der natürlichen Mineralwässer. (Hygien. Rundschau. 1902. No. 10. p. 473—485.)

Schüder, Erwiderung. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XL. 1902. Heft 1. p. 196—198.) — **Schumburg,** Zu der „Schüder'schen Entgegnung" bezüglich des Bromverfahrens zur Trinkwasser-Reinigung. (Ibid. p. 199—202.)

Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Hauman, L., Etude microbiologique et chimique du rouissage aérobie du lin. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1902. No. 5. p. 379—385.)

Heffter, A., Ueber den Einfluß der Borsäure auf die Ausnutzung der Nahrung. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XIX. 1902. Heft 1. p. 97—109.)

Fleisch.

Decker, G., Ueber die Verunreinigung des Fleisches gesunder Tiere mit Tuberkelbacillen durch nichtdesinfizierte Schlacht- und Untersuchungsinstrumente. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1901/2. Heft 6, 8. p. 161—166, 225—231.)

Edelmann, Uebersicht über den Betrieb der öffentlichen Schlachthäuser und Roßschlächtereien in Preußen für das Jahr 1900. (Dtsche tierärztl. Wchschr. 1902. No. 18. p. 177—180.)

Polenske, E., Ueber den Borsäuregehalt von frischen und geräucherten Schweineschinken nach längerer Aufbewahrung in Boraxpulver oder pulverisierter Borsäure. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Bd. XIX. 1902. Heft 1. p. 167—168.)

Milch, Molkerei.

Gillet, Ch., Le ferment oxydant du lait. (Journ. de physiol. et de pathol. génér. T. IV. 1902. No. 3. p. 439—454.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Hopkins, A. D., Insect enemies of the pine in the black hills forest reserve. An account of results of special investigations with recommendations for preventing losses. (U. S. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 32.) 24 p. gr. 8°. Washington 1902. Governm. print. office.

Magnus, P., Ueber die in den knolligen Wurzelauswüchsen der Luzerne lebende Urophlyctis. (Ber. d. dtsch. botan. Ges. 1902. Heft 5. p. 291—296.)
Relazione sullo stato della infezione fillosserica e sui provvedimenti attuati nel 1900 contro la fillossera presentata dal presidente del Consiglio. 247 p. 4°. Roma 1902. (Camera dei Deputati No. 30.)
Scalia, G., Intorno ad una nuova forma del Fusicladium dendriticum (Wallr.) Fuck. (Bollett. d. Accad. Gioenia d. sc. nat. di Catania 1901. N. S. fasc. 70. p. 15—19.)
Smith, A. C., The structure and parasitism of Aphyllon uniflorum Gray. (Publ. Univ. Pennsylvania. N. S. No. 6. Contrib. of the botan. laborat. 1901. Vol. II. No. 2. p. 111—121.)
Stift, A., Ueber das Auftreten der Erdassel (Geophilus longicornis) auf Winterweizen. (Wien. landwirtsch. Ztg. 1902. No. 51. p. 440.)
Ward, H. M., On the relations between host and parasite in the bromes and their brown rust, Puccinia dispersa (Erikss.). (Annals of botany. Vol. XVI. 1902. No. 62. p. 233—315.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 15. September 1902. No. 9.

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Bakteriologische Untersuchungen über Mehlteiggärung.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich.]

Von **Wilh. Holliger**, Seminarlehrer in Wettingen (Aargau, Schweiz).

Einleitung.

Die Gärung des Brotteiges oder die Brotgärung, wie sie auch vielfach in abgekürzter Weise genannt wird, ist schon öfters und zu verschiedenen Zeiten der Gegenstand wissenschaftlicher Unter-

suchungen gewesen. Handelt es sich dabei doch um einen Prozeß, der mit einer Regelmäßigkeit und Häufigkeit wie kein ähnlicher im Dienste der menschlichen Nahrungsmittelbereitung steht. Trotz dieser Alltäglichkeit und damit verbundenen leichten Zugänglichkeit der Erscheinung ist aber das Wesen derselben bis heute nicht endgiltig aufgeklärt worden. Die für die Lösung des Problemes in Betracht kommenden Fragen sind teils mehr chemischer, teils mehr biologischer Natur. Das Studium der letzteren kann nur mit Aussicht auf Erfolg in Angriff genommen werden, wenn die Grundfrage nach der Natur der beim vorliegenden Gärungsprozeß beteiligten Mikroorganismen gelöst ist. Ein Blick auf die hierauf bezüglichen Angaben der neueren bakteriologischen Lehr- und Handbücher ruft nun den Eindruck hervor, als stehe man nicht einer Frage, sondern der befriedigenden Antwort derselben gegenüber. Gewisse Beobachtungen meines Freundes Dr. R. Burri, Docent für landwirtschaftliche Bakteriologie am eidgenössischen Polytechnikum in Zürich, welche zunächst die bei der spontanen Teiggärung beteiligten Organismen betrafen, hatten denselben zu der Ueberzeugung gebracht, daß wenigstens nach dieser Seite hin die Darstellung experimentell nicht genügend gestützt sei. Ich folgte daher gerne seinem Vorschlage, die ganze Kernfrage nach der Natur der bei der Teiggärung irgend welcher Art beteiligten Organismen nochmals in Angriff zu nehmen und womöglich zu einem endgiltigen Abschluß zu bringen.

Die Arbeit zerfällt in 2 Hauptteile, und zwar befaßt sich der erste mit der spontanen Teiggärung, während der zweite gemeinschaftlich Sauerteiggärung und Teiggärung mit Hilfe von Preßhefe behandeln wird. Die Erwähnung der Litteratur, soweit sie für die vorliegende Frage in Betracht kommen kann, geschieht am Anfange jedes Hauptabschnittes.

I. Teil.

Spontane Teiggärung.

Daß ein Teig, der aus Wasser und Mehl hergestellt wird, nach einiger Zeit aufgeht, hat Dünnenberger[1]) 1888 gelegentlich seiner Untersuchungen über Teiggärung festgestellt. Er überzeugte sich, daß nur Bakterien die Ursache des Aufgehens sein konnten und nannte die betreffende Gärung wegen des dabei auftretenden säuerlichen Geruches eine Säuregärung. Später, im Jahre 1894, hat dann Wolffin[2]) die spontane Teiggärung näher verfolgt. Er konstatierte in solchem Teige nahezu eine Reinkultur eines Kurzstäbchens und vollständige Abwesenheit von Hefezellen. Dieses Stäbchen zeigte in verschiedenen Beziehungen große Aehnlichkeit mit dem Bacterium coli, immerhin machten sich einige Unterschiede geltend, welche Veranlassung gaben, vorläufig für den Erreger der spontanen Teig-

1) Dünnenberger, Bakteriologisch-chemische Untersuchungen über die beim Aufgehen des Sauerteiges wirkenden Ursachen. (Dissertation) Zürich 1888.

2) Wolffin, A., Bakteriologische und chemische Untersuchungen über Sauerteiggärung. (Inauguraldissertation) Würzburg 1894.

gärung den Namen „Bacillus levans" (Lehmann und Wolffin) einzuführen.

Das Verhalten von Bac. levans läßt sich nach Wolffin's Angaben folgendermaßen kurz charakterisieren: Fakultativ anaërobes Stäbchen von ungefähr 1,8 μ Länge und 0,6 μ Breite. In zuckerhaltigen Nährmedien werden diese Maße überschritten. Es finden sich auf allen Nährböden sowohl Einzel- als auch Doppelstäbchen, nirgends aber Fadenbildung; Bewegung mäßig, aber deutlich, Sporen werden nicht erzeugt. Auf allen Nährböden wächst Bac. levans bei gewöhnlicher Temperatur ziemlich rasch, bei Bruttemperatur üppig. In seinem Verhalten auf Gelatine, Agar, Kartoffeln und in Bouillon, sowie gegen Farbstoffe und in Bezug auf das Luftbedürfnis sind keine Unterschiede gegenüber Bact. coli nachzuweisen. In Kulturen von Levans blieb im Gegensatz zu solchen von Coli Indolbildung aus. Ebenso koagulierte Levans die Milch nicht, ließ Milchzucker unverändert, entwickelte aus Traubenzucker wohl die gleichen Gase wie Coli, aber in einer anderen prozentualen Zusammensetzung. Das von Levans gebildete Gas enthielt nach Wolffin ca. $^1/_4$ H_2 und $^3/_4$ CO_2, dasjenige von Coli aber ca. $^3/_4$ H_2 und $^1/_4$ CO_2.

Durch Untersuchungen von F. Fränkel[1]) wurde der Bac. levans dem Bact. coli noch näher gerückt, indem in Bezug auf Indolbildung und Milchkoagulation positive Resultate erhalten wurden. Mit Levans geimpfte sterile Milchproben koagulierten stets, aber oft nach verschiedenen Zeiträumen, bald schon nach 24 Stunden, bald wieder erst nach 6 oder 7 Tagen (bei 37°).

Papasotiriu[2]) fand für Levans ebenfalls immer Indolbildung und Milchkoagulation. Nach Lehmann sind die verschiedenen Resultate von Wolffin einerseits und Fränkel andererseits darauf zurückzuführen, daß Wolffin nicht lange genug beobachtete und sehr geringe Mengen von Indol übersah, vielleicht wegen Anwendung von etwas zu viel Nitrit. Für den sichern Nachweis einer Milchgerinnung genügt eine Beobachtungsdauer von nur 2—3 Tagen nicht, so daß auch hier die zu sehr abgekürzte Beobachtungszeit für den negativen Ausfall der diesbezüglichen Experimente verantwortlich gemacht werden dürfte. Papasotiriu kommt zu dem Schlusse, daß der provisorische Name „levans" zu verschwinden habe und daß also Bact. coli als der Organismus der Teiggärung anzusehen sei. Damit wäre dann auch die geringe Bedeutung des Bact. coli als Anzeiger von Wasserverunreinigungen durch Experimente nachgewiesen.

Unsere eigenen Untersuchungen über die Erreger der spontanen Teiggärung führten in mehreren wichtigen Punkten zu wesentlich anderen Befunden. Schon der erste, orientierende Ver-

---

1) Fränkel, F., Ueber das konstante Vorkommen eines zur Coli-Gruppe gehörigen Bacillus im Weißbrotteige. (Inaugural-Dissertation) Würzburg 1896.

2) Papasotiriu, J., Untersuchungen über das Vorkommen des Bact. coli in Teig, Mehl und Getreide, nebst einigen Bemerkungen über die Bedeutung des Bact. coli als Indikator für Verunreinigungen von Wasser mit Fäkalien. (Arch. f. Hyg. Bd. XLI.)

such ergab ein überraschendes Resultat. 50 g Mehl wurden mit sterilem Wasser in sterilem Glase zu einem Teige angerührt und im Thermostaten bei 30° stehen gelassen. Nach 24 Stunden zeigte der Teig lebhafte Gärung unter Entwickelung eines stark saueren Geruches. Während der Teig noch im Aufgehen begriffen war, wurde er direkt mikroskopisch untersucht. Eine Spur aus dem Inneren der Masse auf dem Deckglas zerrieben und im hängenden Tropfen beobachtet, wies zahlreiche bewegliche Kurzstäbchen von etwa 0,7 μ Dicke und wenigstens 2 μ Länge auf. Daneben fanden sich in geringerer Menge bewegliche Langstäbchen, die nach ihren Dimensionen Bac. megaterium anzugehören schienen. Gelatineplatten aus diesem gärenden Teig lieferten nun aber nicht, wie erwartet, ausschließlich oder vorwiegend Kolonieen vom Typus des Bact. coli, sondern es waren deutlich zu unterscheiden:

1) Einige große, rundliche, die Gelatine verflüssigende Kolonieen von Bac. megaterium.

2) In weitaus der größten Menge kleinere, gelbe, gewölbte, kreisrunde Kolonieen mit scharfem Rand. Sie bestanden aus Kurzstäbchen von großer Beweglichkeit.

3) In geringerer Menge weiße, flach ausgebreitete, im Lichte bläulich durchscheinende Kolonieen von unregelmäßig gelappten Umrissen. Die Organismen, welche diese Kolonieen hervorbrachten, stimmten in ihren morphologischen Eigenschaften vollständig mit den unter 2 genannten überein.

4) Einige, die Gelatine verflüssigende Kolonieen von Bact. fluorescens.

Nach der Beschreibung, welche Wolffin vom Aussehen der Gelatineplattenkulturen seines Bac. levans giebt, war es nicht ohne weiteres klar, welcher von den unter 2 und 3 angeführten Organismen mit Bac. levans zu identifizieren sei. Hier konnten nur Versuche über eventuelles Gärvermögen in zuckerhaltigen Nährböden näheren Aufschluß geben. Es wurden deshalb Stich- und Schüttelkulturen in frisch ausgekochtem Traubenzuckeragar angelegt. Von beiden Sorten wurde aus je 2 typischen Oberflächenkolonieen abgeimpft. Nach 24 Stunden zeigten alle 4 Gläschen bei 30° kräftige Gärung. Das Agar war von zahlreichen Gasblasen durchzogen und zerrissen.

Der Versuch lehrte also, daß das benutzte Mehl zwei verschiedene Gasbildner enthielt, welche aërob und anaërob wachsen können.

5 Mehlproben, welche aus verschiedenen Bäckereien von Zürich und Baden stammten, dienten nun zur Wiederholung des Versuches. Es wurde je ein Teig geknetet, der ungefähr die gleiche Konsistenz hatte wie der Brotteig, d. h. der Wasserzusatz betrug dem Gewichte nach etwas mehr als die Hälfte des benutzten Mehles. Wasser und Glasgefäße wurden nicht sterilisiert. In allen 5 Fällen trat wiederum nach 24 Stunden kräftige Gärung ein. Gelatineplatten aus dem Inneren der 5 gärenden Teige geimpft boten ein gleichmäßiges und ähnliches Aussehen. Verflüssigende Kolonieen fanden sich nur vereinzelt. Dieselben gehörten, so weit sich aus dem

Kolonieenbild und der Untersuchung im hängenden Tropfen beurteilen ließ, dem Bac. megaterium, Bac. vulgatus und Bact. fluorescens an. Alle Teige lieferten in weitaus vorwiegender Zahl die erwähnten 2 Gruppen von Kolonieen gasbildender Kurzstäbchen, die im Folgenden vorläufig als weißer resp. gelber Gasbildner oder einfach als „weißer“ und „gelber“ bezeichnet sein mögen.

Sind die Platten noch jung, so ist der gelbe Farbstoff noch wenig ausgebildet. Nach einigen Tagen aber geht das helle Gelb in einen dunkleren Ton über und die Kolonieen der beiden Gasbildner können mit Leichtigkeit schon nach der Farbe unterschieden werden. Bevor der Farbstoff stark hervortritt, ist, wie schon angedeutet, eine Unterscheidung der Kolonieen nach ihrer Form möglich. Natürlich wird man bei jugendlichen Platten, um Verwechselungen zu vermeiden, zum Abimpfen Kolonieen der Oberfläche wählen.

Auf 4 Tage alten Gelatineplatten sind die Oberflächenkolonieen des gelben Gasbildners immer deutlich gelb gefärbt, mit scharfem Rande, gewölbt, glänzend, gegen das Licht gehalten, für dasselbe absolut undurchlässig. Mit Kolonieen von Coli haben sie keine Aehnlichkeit. Oberflächenkolonien des weißen Gasbildners hingegen sind weiß oder graulich, erst später werden sie schwach gelblich, an der Oberfläche der Gelatine sind sie mehr ausgebreitet, nicht kreisrund, sondern nach Art des Bact. coli unregelmäßig gelappt oder auffallend polygonal. Gegen das Licht gehalten sind sie bläulich durchscheinend und zeigen Perlmutterglanz. Eine Verwechselung mit denjenigen des Bact. coli muß als leicht möglich bezeichnet werden.

Bei all den vielen Gelatineplatten, die wir im weiteren Verlaufe unserer Untersuchungen aus spontan gärenden, von Mehlen der verschiedensten Provenienz stammenden Teigen anlegten, erhielten wir stets das gleiche Resultat: Kolonieen beider Gasbildner. In der Mehrzahl der Fälle herrschten auf den Platten die „gelben“ vor, jedoch gab es auch einzelne Mehlproben, wo die Zahl der „weißen“ die der anderen bedeutend übertraf.

Im Gegensatz zu Wolffin konnten wir also im spontan gärenden Teige nicht eine, sondern regelmäßig 2 gasbildende Bakterienarten auffinden. Der Schluß, daß das beobachtete Aufgehen unserer Teigproben auf die von den beiden Arten erzeugten Gase zurückzuführen sei, war naheliegend. Der streng beweisende Versuch, daß die 2 Bakterienarten imstande sind, in sterilisiertem Mehlteig Gasbildung hervorzurufen, findet sich weiter unten angeführt.

Eine andere Frage war die, ob die beiden Arten die einzigen in spontan gärenden Mehlteigen regelmäßig thätigen Gasbildner sind. Mehrfach war uns aufgefallen, daß solche Teige einen ausgesprochenen Geruch nach Buttersäure zeigten. Der Gedanke, daß in den betreffenden Proben neben den erwähnten 2 fakultativ anaëroben Kurzstäbchen auch noch streng anaërobe Arten aus der Gruppe der Buttersäurebacillen im Spiele sein könnten, die be-

kanntlich meist kräftige Gasbildner sind, bestätigte sich bei der mikroskopischen Untersuchung des Teiges. Immer, wenn Buttersäuregeruch deutlich war und nur in diesen Fällen waren schlanke, lebhaft bewegliche Stäbchen in größerer Zahl zu finden. Bei geeignetem Alter der Proben zeigten sich auch Clostridienformen, wie sie für die typischen Buttersäurebildner charakteristisch sind. Noch bestärkt wurde die Vermutung, daß solche vorliegend waren, durch den positiven Ausfall der sogenannten Granulosereaktion (Beijerinck). Dieser Befund, zusammen mit der Thatsache, daß die gewöhnlichen Gelatineplatten, welche mit nach Buttersäure riechenden Teigproben angelegt waren, keine Kolonieen hervorbrachten, die jenen bei direkter mikroskopischer Untersuchung auffallenden schlanken Stäbchen und Clostridien entsprachen, erhebt die Annahme der Beteiligung streng anaërober Buttersäurebildner bei der Gärung der betreffenden Proben beinahe zur Gewißheit. Von einem Isolierungsversuch wurde indessen Abstand genommen, weil das Auftreten der Buttersäuregärung nicht einen regelmäßigen Bestandteil der bei der spontanen Teiggärung sich zeigenden Erscheinungen bildet.

Als konstant in den spontan gärenden Teigproben vorkommende Gasbildner verbleiben somit nur die 2 fakultativ anaëroben Kurzstäbchen, und unsere weitere Aufgabe bestand einerseits darin, dieselben so weit auf ihre Eigenschaften zu untersuchen, als für eine ausreichende Charakterisierung und Abgrenzung unter sich notwendig war, andererseits die Beziehungen festzustellen, welche zwischen den von uns beobachteten 2 Gärungserregern und dem bereits als Erreger der spontanen Mehlteiggärung von anderer Seite beschriebenen Bac. levans bestehen. Von vornherein war anzunehmen, daß dieser letztere mit einem der beiden ersteren identisch sein mußte. Für dasjenige unserer Kurzstäbchen, das bei der Identifizierung mit Bac. levans nicht in Betracht kommen kann, wäre sodann die eventuelle Zugehörigkeit zu anderen in der Litteratur beschriebenen Arten zu diskutieren, während für die dem Bac. levans entsprechende Art der Schwerpunkt auf die Verwandtschaftsverhältnisse zum Bact. coli wird gelegt werden müssen.

Die Untersuchung der beiden Stäbchenarten bezog sich zunächst auf die wichtigste Funktion derselben, nämlich auf die Gasbildung. Als Ausgangsmaterial dienten gleichalterige Kolonieen aus Gelatineplatten, die mit Teigen verschiedenen Ursprunges hergestellt worden waren. Die Ueberimpfungen wurden ausgeführt als Stich- und Schüttelkulturen und zwar kam bei den ersteren mindestens 8 Tage alter Nährboden einerseits direkt, andererseits im frisch ausgekochten und nachher erstarrten Zustande zur Verwendung.

(Siehe Tabelle S. 311.)

In allen 12 Fällen trat somit deutliche Gärung ein. Auch Milchzucker wurde zersetzt, entgegen den Befunden von Wolffin, dessen Bac. levans Laktose nicht vergären soll. Nebenbei war

Art der Kultur	Nach 15 Stunden bei 30°	Nach weiteren 24 Stunden
	a) Gelber Gasbildner.	
Traubenzuckeragar Schüttel	Viel Gas, Nährboden stark zerrissen	Sehr viel Gas, Watte weg geschleudert
gekocht — Stich	Fast keine Blasen, aber zerrissen	wie oben
ungekocht — Stich	Viele Blasen, Agar nicht zerrissen	Viel Gas, Agar wenig zerrissen
Milchzuckeragar Schüttel	Ziemlich viel Gas, Agar etwas zerrissen	Ziemlich viel Gas, Agar 1—2 cm zerrissen
gekocht — Stich	Eine Blase	Agar 1 cm gehoben, sonst fast keine Blasen
ungekocht — Stich	wie oben	wie oben
	b) Weißer Gasbildner.	
Traubenzuckeragar Schüttel	Viel Gas, Agar zum Teil zerrissen	Agar stark zerrissen, Watte nicht weg
gekocht — Stich	wie oben	Agar bis an die Watte gehoben
ungekocht — Stich	Viele Blasen, Agar nicht zerrissen	Agar sehr zerrissen
Milchzuckeragar Schüttel	Viel Gas, Agar zum Teil zerrissen	Agar ziemlich zerrissen
gekocht — Stich	Kein Gas	Ziemlich viel Gas, Agar 1—2 cm zerrissen
ungekocht — Stich	Einige Blasen	Keine Blasen, Agar 1—2 cm gehoben

festzustellen die Ueberlegenheit der Schüttelkulturen [1]) über Stichkulturen, da, wo es sich um Gasbildung handelt und sodann die entschieden günstige Wirkung, welche das vorherige Auskochen des Agars zum Zwecke der Entfernung des Sauerstoffes auf die Intensität der Gasbildung äußert. Weitere Versuche mit Trauben- und Milchzuckeragarstichkulturen der beiden Gasbildner bei 30° lieferten stets das gleiche Resultat, immer aber war die Vergärung des Milchzuckers eine weniger intensive als die des Traubenzuckers und trat in der Regel auch später ein.

Nun wurde auch Zuckerbouillon in Gärkölbchen [2]) zum Vergären gebracht, stets mit demselben Erfolge wie bei Zuckeragarkulturen. Immer wurde Milchzucker vergoren, daraus aber weniger Gas erzeugt als aus Traubenzucker. Während z. B. bei einer Versuchsserie aus Milchzuckerbouillon die gelbe Form total 2,8 ccm und die weiße 4,3 ccm Gas lieferte, entwickelten sie aus Traubenzuckerbouillon annähernd 9 ccm Gas.

Wie Bac. levans, haben auch unsere beiden Gasbildner oft aus Nährböden, denen kein Zucker zugesetzt worden war (Gelatine,

1) Lehmann und Neumann, Bakt. Diagnostik.
2) Smith, Theobald, Das Gärungskölbchen in der Bakteriologie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VII. 1890.)

Agar) einige Gasblasen frei gemacht. Es könnte nun eingewendet werden, die für die Gärversuche verwendeten Milchzuckernährböden hätten noch etwas Traubenzucker enthalten und die scheinbare Milchzuckervergärung sei deshalb nichts anderes als die Vergärung der geringen Menge von Traubenzucker, daher auch die schwächere Gasbildung. Um diesem Einwande zu begegnen, impften wir die in unserem Laboratorium gebräuchliche Milchzuckerbouillon mit Preßhefe. In der That trat eine Gärung ein, dieselbe war aber so minim, daß höchstens $^1/_2$ ccm Gas gebildet wurde, welcher Betrag von der bei der Zersetzung durch unsere Gasbildner erhaltenen Menge subtrahiert werden muß. Damit ist bewiesen, daß die beiden Erreger der spontanen Teiggärung imstande sind, auch Milchzucker unter Gasabspaltung zu zersetzen.

Das Gärvermögen der einzelnen Stämme beider Gasbildner ist ein sehr verschieden. Es gilt das nicht nur für Stämme aus verschiedenen Teigproben, sondern auch für Stämme, die aus ein und derselben Platte entnommen sind. Zwei extreme Fälle, wo das Impfmaterial aus zwei verschiedenen Platten stammte, sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Nach	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 Tagen
Milchzuckerbouillon in Gärkölbchen bei 30°										
1. Typisch gelbe Kolonie a	1,0	1,6	2,0	2,0	2,3	2,6	2,6	3,0	3,0	3,0
2. Typisch weiße Kolonie a	0,5	1,0	1,4	1,4	1,5	1,6	1,6	1,7	1,8	1,8
3. Typisch gelbe Kolonie b	1,3	3,2	5,0	6,2	7,8	8,5	8,8	9,4	9,5	9,5
4. Typisch weiße Kolonie b	0,6	2,0	3,8	5,0	6,6	7,5	8,1	9,0	9,2	9,2

Die Zahlen bedeuten ccm Gas.

Bisweilen haben wir aus Platten neben gut gärenden Stämmen auch solche erhalten, welche die Fähigkeit, Trauben- und Milchzucker zu vergären, anscheinend vollständig eingebüßt hatten, sich aber im übrigen durch nichts von den gasbildenden Stämmen unterscheiden.

Die beiden Gasbildner wurden auch auf ihr Verhalten gegenüber sterilem Teig geprüft. Wolffin hat nach dem Vorschlage von Wollny Mehl durch mehrtägiges Ueberschichten mit Aether sterilisiert. Nach 6 Tagen erwies sich auch bei unseren Versuchen das Mehl nach dem Abdunsten des Aethers stets keimfrei. Kulturen in Bouillon und auf Agarstrich lieferten nie Wachstum. Solches steriles Mehl wurde nun mit der notwendigen Menge sterilen Wassers, dem der gelbe resp. weiße Gasbildner aus Agarstrichkulturen zugesetzt worden war, sorgfältig mit Anwendung eines sterilen Nickellöffelchens zu einem Teige angerührt und verschlossen stehen gelassen. Jedesmal erhielten wir kräftige Gärung, während eine gleich behandelte, aber nicht geimpfte Kontrollprobe keine Spur von Aufgehen erkennen ließ.

Jeder der beiden Gasbildner kann für sich allein steriles Mehl vergären.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

The Aëration of Milk [1]).

By **Charles E. Marshall**,

Bacteriologist and Hygienist of Experiment Station Michigan Agricultural College Michigan.

Although practical aëration of milk may be traced back to an indefinite past, where it is simply mentioned and recognized, there has never been any plausible explanation or demonstration of the results claimed for it. Moreover, its application has always been very limited until within very recent years, and so far as its value is concerned at the present time, nothing has been satisfactorially established regarding it, other than the belief that it eliminates animal odors and removes, to a certain extent, tainted conditions of milk resulting either from physiological metabolism due to ingestion of aromatic food substances or produced by the growth of saprophytic bacteria in milk after the milk has left the udder of the cow. Even these animal odors and taints have been more or less undefinable and immeasurable; only daily practices in dairy operations have indicated and established beyond a doubt that both of these are greatly lessened by proper aëration.

Many other beliefs have been associated with or attributed to the process of aëration, such as, the production of more cheese and better cheese, the production of more butter and better butter, the more rapid rising of the cream, the more rapid churning of the cream, the better keeping qualities of the milk and butter, all of these advantages have been assigned to aëration over the non-aëration of milk.

I. Review of aëration of milk.

Studying from the standpoint of the dairyman, Willard [2]), Arnold [3]), Lewis [4]), Cooke [5]), Wing [6]) Plumb [7]), Bean [8]) and the Danes [9]) under Storch have contributed to our knowledge of its application as it is at present practiced, but all of their work fails to explain the process itself or to state what aëration is. They do not throw any light on why aëration may answer any of the above questions named. An attempt is made to demonstrate whether butter made from aërated milk is better than butter made from

1) Thesis presented for the degree of Doctor of Philosophy, University of Michigan.

2) Willard's practical dairy husbandry. 1871. p. 183.

3) loc. cit.

4) U. S. Agric. Report. 1874. p. 397.

5) Ver. Exp. Stat. Report. 1892. p. 123.

6) Cornell Exp. Stat. Bul. 39.

7) Purdue Exp. Stat. Bul. 44.

8) College Reports (Guelph, Ont.). 1898, 1899, 1900, 1901.

9) 48 de Beretning fra den Kgl. Veterinaer og Landbokijskoles Laboratorium for landøkonomiske Forsøg.

non-aërated milk, whether more cheese has been made from milk that has been aërated than from milk that has not been aërated. By these methods, perhaps, some valuable points have been settled, and still the future may change the character of this work wholly, since it is true they have not answered the question "What is aëration?" or more explicitly "Were they really working with aërated milk or non-aërated milk?".

It seems pertinent at the start, that before we can understand or explain aëration of milk it is necessary that we understand what aëration is, and that we know whether we are producing aërated milk or not. All the practical experiments executed have been with aëration and non-aëration as they are known to us from present methods alone. The difference between the two may not be so marked as suspected and for this reason fail in producing the most noticeable effects. The starting point, non-aëration, must be first established and from that our conclusions should, in a way, be drawn; that is, we must determine any change in the carbon dioxide and oxygen content, with a decrease in the former and an increase in the latter as a process whose final limitations are not known or influences realized.

It is regretted that the value of our present aërating methods cannot be stated more exactly at this time, rather than depend upon the virtually negative results obtained by the individuals named in their endeavor to secure some practical explanation through their practical experiments. We hope to make this our next task; for the present we must content ourselves with the references to be gained from the evidence at hand. The aërating methods now in vogue in dairy operations may or may not yield results. It is not necessary to say whether these methods are effectual or not; for our purpose their value cannot be determined until each method has been worked out with pains-taking care. As soon as there has been extablished a non-aërated milk and a satisfactory aërated milk, then we may hope to reach some definite conclusion in its application to the dairy. Before this is done, the one hope that can be held out is that some of the aërating methods now employed may be giving some advantages over the non-aërating methods besides those which are recognized in the removal of odors and taints in a slight degree.

The work which follows has for its immediate aim the demonstration of what constitutes non-aëration and aëration and how it may influence the condition of the milk itself and the germ content of the milk. After getting into the work it has been found necessary to eliminate several side-problems which bear directly upon aëration for the present and confine ourselves to the main line planned at the start. It should be noted, therefore, that all the aspects are not to be satisfactorially considered in this article, but rather, that a path has been hewn out of an unknown forest of doubt and ignorance which we may follow with profit in the future and may eventually be led to the solution of the whole question.

II. Review of the gas-content of milk.

The first problem which confronts the experimenter is to obtain a knowledge of the gas-content of the milk before exposure to the air. Dr. Felix Hoppe[1]), in 1859, made a study of the gases of milk from a goat.

Eis analyses are as follows:

First analysis.

Carbon dioxide .	9	parts
Oxygen	9,57	"
Nitrogen . . .	8,43	"

This trial should be regarded in the nature of a preliminary test.

In securing the milk he drew it into a funnel contiguous to the end of the teat of the goat, and conducted the milk into a flask from which the air was expelled as the milk filled the flask. To this method of securing the milk, there is an objection because the milk had been exposed to the oxygen of the air, not only in its agitation while passing along the tube in contact with the air, but also in the surface contact with the oxygen in the air in the flask itself.

Second analysis.

Carbon dioxide .	55,15	per cent
Oxygen	4,29	" "
Nitrogen	40,56	" "

He secured 12,08 volumes of gas from 402 volumes of milk measured at o^0 and 1 M pressure. With this analysis the same criticism can be made as with the first analysis. He used the funnel but improved the design of the flask. When these analyses are compared, therefore, with the analyses of the gases from the milk immediately after milking, it will be seen at once that he has reached practically the same results; consequently his analyses are no more than the analyses of gases from milk immediately after milking. Without reference to his method of securing the gas, which is also open to condemnation, it follows that this work may be disregarded and is no criterion to follow when considering the gas-content of milk as it comes from the udder of the cow.

Stechnow[2]) adopted another method of securing the milk. Olive oil, the best obtainable, was used to cover the milk. He inserted the end of the teat into the oil and milked, thus maintaining a layer of oil over the surface of the milk. This, doubtless, had an influence in restraining the influence of the oxygen in the air by keeping the air away from the surface of the milk and also reducing the oxygen content which the milk as it passed in a stream from the teat of the cow to the receptacle necessarially acquired. An objection, however, should be offered to the use of oil for the exclusion of oxygen because it is a well known fact that

1) Arch. f. path. Anat. and Physiol. und f. klinische Medizin. Bd. XVII. 1859. No. 5. p. 417.

2) Zeitschr. f. rat. Medizin von Henle u. Pfeuffer, Bd. X. 1861. p. 285.

oil contains oxygen in the from of super-oxygen-ated compounds, and also probably as free oxygen. In securing the gases from the milk a mercury pump was used as seems to have been the general practice with Stechnow and those who followed him, to which little criticism can be offered as viewed from the results obtained.

His analyses are as follows:

First analysis.

Carbon dioxide . . .	77,50 per cent.
Oxygen and nitrogen .	22,50 „ „

He obtained 7,29 ccm of gases from 100 ccm of milk and employed for his analysis 67,5 ccm of milk.

Second analysis.

Carbon dioxide .	81,06 per cent.
Oxygen . . .	1,93 „ „
Nitrogen . . .	17,01 „ „

He obtained 8,29 ccm of gases per 100 ccm of milk. He used 297,5 ccm of milk.

Third analysis.

Carbon dioxide .	75,11 per cent.
Oxygen . . .	4,79 „ „
Nitrogen . . .	20,10 „ „

Total gas is equal to 6,67 ccm per 100 ccm of milk. Amount of milk used 256,3 ccm.

Pflüger[1]) believing that Stechnow was open to error in his method of securing the milk from the udder by shielding it as he did from the air by means of oil, attempted to overcome it by another device for conducting the milk from the udder to the receptacle without exposure to the air at all. To do this he employed a piece of rubber, fitting over the teat and udder of the cow as a glove would fit upon the finger; and, by means of a narrow tube and glass tube was able to lead the milk into a vessel of mercury and collect it over mercury after first driving the air out of the tube by milking for a time and filling the tube with milk, and then placing thee free end of the tube under the mercury in the container. This course may be open to criticism in that there would be some leakage about the surface of the teat over which the rubber was fitted, but the analysis of Pflüger indicate that he was not troubled very much by the possible exposure to the air from this source and that the milk secured by this method was practically free, if not wholly free, from air. Further than this, his results are as satisfactory as any of the results obtained when other methods are employed for securing the milk, and which, in our case, we believe, did not follow of any exposure te the air at all. This will be shown later.

1) Pflüger's Arch. f. Physiol. Bd. II. 1869. p. 166—173.

(Fortsetzung folgt.)

Ueber den Zusammenhang zwischen Pleospora- und Helminthosporium-Arten.

Von **H. Diedicke**, Erfurt.

Mit 9 Figuren.

Die in der Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. XI. p. 1 veröffentlichte Arbeit von K. Ravn „Ueber einige Helminthosporium-Arten und die von denselben hervorgerufenen Krankheiten bei Gerste und Hafer" gab mir die Anregung, einige Krankheitserscheinungen ähnlicher Natur bei Bromus asper Murr. var. serotinus Beneken und bei Triticum repens L. genauer zu verfolgen.

An dem genannten Bromus, den ich der Kürze wegen im Folgenden stets mit Br. asper bezeichnen will, habe ich schon seit mehreren Jahren im Herbst und Winter auf den trockenen Blättern zerstreut stehende, schwarze, sklerotienartige Knoten gefunden, die aber immer steril blieben; erst im vorigen Frühjahr (1901) gelang es mir, sie bis zur Bildung von reifen Schläuchen zu kultivieren, wobei sich der Pilz als eine großsporige Pleospora erwies (s. u.). Auf den Blättern derselben Pflanzen fand sich dagegen im Frühling und Sommer ein Helminthosporium, dessen Auftreten an H. teres Sacc. erinnert.

Auch bei Triticum repens beobachtete ich im April 1901 auf trockenen Blättern und Blattscheiden zum ersten Male solche Perithecien an 2 verschiedenen Standorten, und etwa gleichzeitig auf den untersten grünen Blättern Krankheitserscheinungen, die bei dem einen Standorte (einer Kiesgrube) an die von Helminthosporium gramineum Rabenh. an Gerste, resp. von H. Avenae Br. et Cav. an Hafer hervorgerufenen, bei dem anderen (einem kahlen, trockenen Gipshügel) an die von H. teres Sacc. verursachten Krankheitsbilder erinnerten. Da nun auch K. Ravn in seiner Arbeit ähnliche sklerotiale Gebilde aus seinen Kulturen beschreibt und dabei auf Pyrenophora polytricha (Wallr.) als den vermuteten Ascomyceten hinweist, lag es nahe, daß ich mir für meine Untersuchung folgende Fragen vorlegte und zu beantworten suchte:

1) Gehören die Helminthosporien von Bromus asper und Triticum repens in den Entwickelungsgang der auf denselben Pflanzen gefundenen Pleospora-Arten?

2) Sind die 3 beobachteten Pilzarten identisch?

3) Wie verhalten sie sich zu den von Ravn angeführten Arten H. gramineum Rabenh., H. teres Sacc. und H. Avenae Br. et Cav.?

1. Die Krankheitserscheinungen.

A. Auf Bromus asper.

An den im Frühjahr aus den alten Wurzelstöcken austreibenden Pflanzen werden bald nach dem Austreiben schon die ersten Blätter infiziert. Dieselben bekommen zunächst etwas bleichere, von einem bräunlichen Hofe umgebene, ca. 1—3 mm lange und halb so breite, in der Längsrichtung der Blätter verlaufende, unregelmäßig über das Blatt verbreitete Flecke, in deren Mitte sich bald ein dunkles Pünktchen zeigt. Dieses vergrößert sich schnell und wird zu einem dunkelbraunen Fleck, der allmählich die Größe der vorher bleichen Stelle erreicht, während der obengenannte Hof vergilbt. Sind mehrere solche braune Flecke dicht nebeneinander, so fließen die gelben Stellen ineinander und nehmen dann wohl die ganze Breite des Blattes ein. Ebenso wird die Spitze des Blattes zunächst gelb, dann grau wie alle gelben Stellen; die braunen Flecke dagegen vergrößern sich nicht mehr wesentlich, sondern bleiben auf dem allmählich völlig grau und trocken werdenden Blatte deutlich sichtbar, wenn auch ihre Grenzen verwischt sind. Nur auf diesen braunen Flecken treten die Conidienträger heraus, die die bekannten Conidien abschnüren. Diese sind genau wie die von Ravn (l. c.) beschriebenen und gezeichneten: 108—150 μ lang, 13—20 μ dick, mit 4—6 Querwänden, welch letztere sich beim Austrocknen in eigentümlicher Weise in der Form verändern. Nachdem die untersten Blätter in dieser Weise deformiert sind, tritt ein gewisser Stillstand ein; das zuletzt beschriebene Stadium fand ich am 14. Mai (1901) — bis Mitte Juni war kein Fortschritt in der Erkrankung zu bemerken. Dann aber traten an den mittleren bis oberen Blättern des inzwischen über 1 m hoch gewordenen Grases die von Ravn als „sekundäre Helminthosporiosen" bezeichneten Krankheitserscheinungen auf. Dieselben sind von denen der ersten Erkrankung kaum verschieden, nur fehlt hier fast immer der gelbe Rand; die auftretenden Flecke sind von Anfang an braun, höchstens von einem etwas helleren, aber auch bräunlichen Hofe umgeben. Auch die Spitze des Blattes wird bei fortschreitender Erkrankung nicht gelb, sondern grau oder braun und bald trocken. Auch hier treten dann aus den braunen, bis 12 mm langen Flecken die Conidienträger mit den Conidien aus. Dieses Krankheitsbild findet sich bis in den Herbst hinein, so lange überhaupt noch grüne Blätter vorhanden sind.

Die Blattscheiden werden von der primären Krankheit nur selten, häufiger von der sekundären befallen und zeigen dann außer den längsgestreckten braunen Flecken keine Einwirkung des Parasiten. Auf die Weiterentwickelung der ganzen Pflanze hat der Pilz keinen Einfluß, besonders auch nicht auf den Ertrag an Körnern. Auch habe ich nie „Braunspitzigkeit" der Körner bemerkt oder Helminthosporiosen auf den Spelzen gesehen. — Der ganze Entwickelungsgang ist also analog dem von Helm. teres Sacc., wie er von Ravn l. c. beschrieben ist.

Noch vor dem Auftreten der sekundären Erkrankung sind die untersten Blätter völlig grau und trocken geworden und auf ihnen fand ich schon am 26. Juli häufig die Perithecienanlagen. Auf der ganzen Blattfläche stehen in Entfernungen von ca. 2—5 mm unregelmäßig zerstreute schwarze Pünktchen, die bei einem Durchmesser von etwa $^1/_5$—$^1/_3$ mm knotenartig auf der Ober- oder Unterseite des Blattes etwas hervorragen, wohl auch die Epidermis an ihrer Spitze sprengen, aber im unentwickelten Zustande (sklerotial) den ganzen Winter über verharren.

Erst im Frühjahr 1901 gelang es mir, aus diesen Gebilden die Ascus-Form zu erzielen. Nachdem ich am 20. April trockene Blätter unter der Glasglocke feucht gesetzt hatte, entwickelten sich zuerst auf den Perithecien braune, septierte, starre Borsten und dann in denselben die Asci. Diese sind (es wurden 22 Messungen ausgeführt) 189—288 μ lang, im Durchschnitt 224 μ und 36—58,5 μ breit, im Durchschnitt 49,5 μ, mit dünner Wand, sackartig. In diesen Schläuchen befinden sich, meist 2-reihig gelagert, bis 8 Sporen (gewöhnlich sind weniger entwickelt). Letztere sind gelbbraun, durch 3 Querwände und die zweite, breiteste Zelle außerdem oft noch durch eine Längswand geteilt, mit Gallerthülle. Ihre Größe beträgt (nach 59 Messungen): 48,6—82,8 μ lang (Durchschnitt 59,4 μ) bei 19,8—32,4 μ Breite (Durchschnitt 22,5 μ). Die Perithecien würden also entweder der Pleospora relicina (Fckl.) oder der Pl. trichostoma (Fr.) angehören. (S. u.)

NB. Interessant ist bei dieser wie der folgenden Pleospora der Mechanismus der Sporenentleerung: Die Zellwand der Asci ist zunächst ziemlich dünn, enthält aber an der Spitze 3 noch mehr verdünnte Stellen, 1 ganz vorn, 2 etwas seitlich. Beim Aufquellen im Wasser wird die Membran an diesen 3 Stellen weniger dick, und durch den ungleichmäßigen Druck der verschieden starken Stellen erfolgt ein Zusammenfalten der dünneren Teile, somit ein kopfförmiges Zusammenziehen der Schlauchspitze. Dies ist nun der Anstoß zum Vorwärtsschieben der Sporen, die dann an der dünnsten Stelle des Ascus, nämlich dicht an dem kurzen Stiel oder durch diesen selbst austreten.

B. Auf Triticum repens. Form I.

Die untersten Blätter waren schon am 7. Mai (1901) halb oder ganz vergilbt; die Krankheit beginnt mit einer Verblassung langer Streifen, die gelbe Farbe annehmen. Die Verfärbung nimmt bald größere Dimensionen an und bald sind die ganzen Blätter gelb und schlaff. Braunes Pigment findet sich nur selten und nur in kleinen, fast runden, nur 1—2 mm im Durchmesser haltenden Punkten innerhalb der gelben Flecke. Dagegen werden die Blätter, von der Spitze nach dem Grunde fortschreitend, bald grau und trocken, und auf diesen trockenen Flächen entwickelt sich der bräunliche Ueberzug von Conidienträgern und Conidien des Helminthosporium. Letztere unterscheiden sich von denen auf Bromus asper nicht. Nachdem solche trocken gewordenen

Blätter einige Tage in feuchter Glasschale gelegen hatten, waren auf ihnen neben reichlichem Helminthosporium am 16. Mai schon wieder Anlagen von Perithecien zu bemerken, die ich in vollkommenem Zustande auf den trockenen Blättern des vorhergehenden Jahres reichlich fand. Im weiteren Verlaufe der Erkrankung werden auch die weiter oben stehenden Blätter in derselben Weise infiziert und gewöhnlich kam es an den kranken Pflanzen zur Bildung der Aehre überhaupt nicht oder die Aehre blieb in der obersten Blattscheide stecken — ein Krankheitsbild wie bei der durch H. gramineum Rabenh. verursachten „Streifenkrankheit" der Gerste, cf. Ravn l. c.

Auf den überwinterten Blättern finden sich die Perithecien. Sie stehen gleichfalls über die ganze Blattfläche zerstreut und sind im Durchschnitt etwas kleiner als bei Bromus asper, mit der hervorragenden Mündung etwas über die Blattfläche erhaben. An der Mündung stehen vereinzelte Borsten; die Asci gleichen ebenso wie die Sporen denen der vorigen Art, nur sind die Maße durchschnittlich etwas kleiner: Die Asci sind durchschnittlich 165 μ lang und 45 μ breit, die Sporen 46,8 μ lang bei 18,5 μ Breite. Auch diese Art dürfte also in die Verwandtschaft der oben genannten Pleospora-Arten gehören.

C. Auf Triticum repens. Form II.

Die auf den Blättern von Tr. repens von einem anderen Standorte (einem kahlen Gipshügel, der Schwellenburg bei Erfurt) vorkommende dritte Helminthosporium-Art ähnelt in ihrem Auftreten der ersten, von Bromus asper beschriebenen. Zunächst treten gelbe, vereinzelte, längsgestreckte, bis 4 mm lange Flecke auf mit brauner Mitte, die sich vergrößert bis zur Größe der gelben Flecke, während das Blatt nach und nach grau wird. Von der grauen Blattfläche heben sich die braunen Flecke trotz der undeutlichen Ränder gut ab und auf ihnen sind die Conidien zu finden, die sich von den übrigen Arten nicht unterscheiden. Die Pflanzen entwickeln sich gut, eine Einwirkung auf die Ausbildung der Aehre war nicht zu bemerken. Sekundäre Erkrankungserscheinungen zu beobachten hatte ich keine Gelegenheit.

Auf den überwinterten Blättern zeigten sich auch hier die Perithecien, deren Entwickelung ich aber gleichfalls nicht verfolgen konnte; die Schläuche hatten noch keine reifen Sporen. Da auch im Herbst 1901 und in diesem Frühling keine Perithecien wieder zu finden waren, so mußte leider diese dritte Helminthosporium-Art von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen bleiben.

Dagegen wurde noch Bromus inermis Leyss. wenigstens für die Infektionsversuche mit in Betracht gezogen, da ich auch auf dessen Blättern ähnliche braune Flecke, wenn auch keine Perithecien, fand.

2. Reinkulturen.

Um Klarheit über die erste der eingangs gestellten Fragen zu erhalten, ob nämlich die Helminthosporium-Conidien in den Entwickelungskreis der Pleospora gehören, mußte ich Reinkulturen der letzteren anlegen. Das dazu geeignete Material an Perithecien wurde im Herbst 1901 eingesammelt, die trockenen Grasblätter in Leinwandsäckchen genäht und an der Luft den Unbilden der Witterung ausgesetzt. Von Bromus asper wurden außerdem auch noch in diesem Frühjahr neue Blätter geholt und von da an feucht gehalten.

A. Bromus asper.

Mit dem letztgenannten frischen Material, welches ich 24 Stunden in Wasser gelegt und dann 3 Tage lang in feuchter Glasschale aufbewahrt hatte, wurden am 4. April Tropfenkulturen angelegt.

Ich bemerke gleich hier, daß mir leider nicht die reichen Mittel der Universitätsstadt oder der landwirtschaftlichen Versuchsstation zur Verfügung stehen; ich habe deshalb die Kulturen stets in Pflaumendekoktgelatine angelegt, wobei gute Erfolge erzielt wurden. Ich bin überzeugt, daß auch andere, besonders die von Ravn mit Erfolg benutzten Nährlösungen das gleiche Resultat ergeben würden. In je einen Tropfen der genannten Flüssigkeit wurden Teile von zerquetschten Perithecien, welche reife Sporen enthielten, gebracht und das Ganze in sterilisierter feuchter Schale gehalten. Am 6. April waren die Sporen gekeimt; die Keimung erfolgt durch Keimschläuche, welche von beliebigen Zellen aus meist in der Mehrzahl, gewöhnlich dicht nebeneinander, hervortreten; die Endzellen scheinen bei der Keimung bevorzugt zu sein. Am 7. sind die Hyphen schon reich verzweigt, dann entwickelt sich bald ein dichtes Mycel, welches schnell aus dem Tropfen heraus an die Luft tritt und im Inneren durch Verwachsung der dabei leicht gebräunten Myceläste Knoten bildet (Anfänge zu Pykniden oder Sklerotien?). An den Enden der Myceläste erschienen aber (am 15. April) zunächst nicht Helminthosporium-Conidien, sondern Sporen von der Form einer Alternaria — erst am 20. April fanden sich in der Nähe der sklerotialen Gebilde auch zahlreiche Helminthosporium-Conidien. Beim Vergleich der Mycelien dieser verschiedenen Sporenformen ergab sich sogleich ein prägnanter Unterschied: das der Alternaria besaß langgestreckte, wenig gekrümmte Hyphen, während die Helminthosporium-Conidien auf schlängelig, fast wollig gekrümmten Fäden saßen. Bei beiden sind die gebildeten Conidienträger gebräunt, bei Alternaria auch die benachbarten Zellen des Mycelastes, auf dem sie sitzen, bei Helminthosporium dagegen nicht. Ich schob das Erscheinen der Alternaria auf den Umstand, daß beim Einlegen in den Tropfen auch Teile der Perithecienwand sowie kleine Blattpartikelchen mit in die Nährlösung gekommen waren und wiederholte darum den Versuch am 11. Mai, wobei ich schon am 16. auf 3 Kolonieen Helminthosporium

2) Aus den Sporen treiben bald Mycelfäden durch die Wand des Ascus hindurch, es bildet sich reichlich Luftmycel, das am 22. Mai Anfänge zu Conidienträgern, am 23. einige, am 24. reichlich Conidien trägt.

3) Es entsteht aus der Spore das typische Helminthosporium-Mycel; am 27. Mai die ersten Conidien.

4) Aus den Teilen der Perithecienwand entstehen zweierlei Arten von Mycel: spärlich entwickeln sich die wollig gekrümmten Hyphen von Helminthosporium und werden bald überwuchert von einem geradfädigen Mycel, das sehr rasch weiterwächst, reichlich Luftmycel bildet und am 27. Mai einige Sporen der Alternaria gebildet hat.

5) Weder Helminthosporium noch Alternaria sind bis zum 27. Mai entstanden, am 31. Mai einige Reihen von Alternaria an Kulturen von braunen Blattstellen.

B. Triticum repens.

Am 23. April wurden die Kulturen in derselben Weise angelegt wie die vorigen; am 25. waren die Sporen gekeimt, auch aus den Resten der Perithecienwände entsproß Mycel. Am 27. waren schon Anfänge zu neuen Sklerotien entstanden. Die Kulturen konnten nun leider eine Reihe von Tagen hindurch nicht fortlaufend beobachtet werden, das Endresultat war, daß in den meisten der angelegten Kulturen am 16. Mai Helminthosporium-Conidien entstanden waren. Die sehr häufigen Mycelverwachsungen waren von anderem Bau. Die verwachsenden Zweige treiben kurze, gebräunte Seitenäste, die zu breiten, elliptischen bis kugeligen, oft schiefen, dunkelbraunen Zellen anschwellen. Von letzteren gehen dann häufig wieder Mycelästе, öfter auch Conidienträger aus mit typischem Helminthosporium. Ueberhaupt scheint diese Art viel leichter Perithecien anzulegen als die vorige (cf. auch die Infektionsversuche).

3. Infektionsversuche.

Nachdem durch Reinkultur bewiesen war, daß die Helminthosporium-Arten auf Bromus asper und Triticum repens die Conidienformen der auf denselben Pflanzen vorkommenden Pleospora-Arten sind, mußte durch Infektionen nachgeprüft werden, ob die durch Helminthosporium hervorgerufenen spontanen Krankheitserscheinungen auch durch Impfung mit Pleospora-Sporen entstehen. Diese Infektionen sollten aber zugleich dem weiteren Zwecke dienen, die event. Identität beider Pilze genauer klarzulegen, sowie ihr Verhältnis zu den von Ravn l. c. angeführten 3 Arten auf Gerste und Hafer festzustellen.

Sie wurden mit demselben Pleospora-Material ausgeführt, das bei den Reinkulturen benutzt wurde, und zwar wurden die reifen Perithecien zerquetscht, in reinem Wasser verteilt und mit dem

Pinsel auf die einzelnen Blätter aufgetragen. Als Infektionsstelle wurde das unterste Blatt der Keimpflänzchen gewählt. Die infizierten Gräser waren zu je 10—20 in Töpfchen ausgesät worden und standen in einem durch Querwände geteilten Glaskasten, dessen Wände und Decke durch Fließpapier feucht gehalten wurden. Es wurde Sporenmaterial ausgesät auf folgende Gräser:

1) Bromus asper. Die Samen hatte ich im Herbste selbst gesammelt, und zwar möglichst von solchen Stellen, wo die Blätter nicht mit Pleospora besetzt waren.

2) Triticum repens. Die Samen erhielt ich durch Herrn Garteninspektor Bergfeld aus einer hiesigen Handelsgärtnerei.

3) Bromus inermis. Samen selbst gesammelt wie bei 1.

4) Hordeum. Da die Erscheinungen, welche das Helminthosporium auf Bromus asper hervorrief, denen des H. teres Sacc. ähneln, wie sie Ravn beschreibt, wurde die Pleospora von Bromus nur auf Hordeum distichum nutans ausgesät, welche von Helm. teres vorzugsweise befallen wird; aus demselben Grunde infizierte ich mit Pl. von Triticum repens nur Hordeum haxastichon erectum, das von Helm. gramineum Rabenh. heimgesucht wird. Die Samen der beiden Gerstenarten erhielt ich durch Vermittelung der Herren Professoren Dr. Detmer und Dr. Edler-Jena aus dem dortigen landwirtschaftlichen Institut. Den beiden genannten Herren, wie Herrn Inspektor Bergfeld, sage ich auch an dieser Stelle für ihre freundliche Unterstützung nochmals meinen besten Dank.

5) Avena sativa. Die Samen wurden von einer Samenhandlung gekauft.

Jedesmal die Hälfte der betreffenden Samen wurde vor der Aussaat in der Weise desinfiziert, wie es Ravn bei seinen Versuchen gethan hat: Nach vorherigem Aufquellen wurden die Körner ca. 4 Minuten in Wasser von 50° gethan und dann ausgesät. Der Infektionserfolg war bei den so behandelten Samen derselbe wie bei den nicht desinfizierten, ich habe deshalb in der folgenden Tabelle, welche die Resultate der Impfversuche zusammenstellt, auf die Desinfektion nicht Bezug genommen.

(Siehe Tabelle S. 326.)

Am sichersten war der Erfolg zu beobachten an Bromus asper, sowohl was Infektionsfähigkeit als Geschwindigkeit anbelangt. Schon am 2. Tage nach der Infektion waren die braunen Flecke mit bloßem Auge zu erkennen. Es traten auch in den Kulturen bald die sekundären Helminthosporiosen auf; an 2 Blättern befanden sich am 28. Mai neu entstandene braune Infektionsgebiete in der Nähe der primären.

Am weitesten fortgeschritten war die Entwickelung dagegen bei Triticum repens, wo am 24. Mai neben reichlicher Conidienentwickelung auch schon wieder Anlagen zu neuen Perithecien auf einem der grau gewordenen Blätter zu finden waren.

Die Uebertragung der Pleospora von Bromus asper auf Br. inermis gelang verhältnismäßig leicht; die Krankheitser-

A. Pleospora von Bromus asper.

Geimpft auf	Wieviel Pflanzen?	Geimpft am	Erster Erfolg am	Ueberhaupt Erfolg an		Bemerkungen
				Wieviel Pflanzen?	%	
Bromus asper	26	11. 5. 18. 5.	13. 5. 20. 5.	24	92,3	Conidien am 22. 5. Secund. Helm. am 28. 5.
Triticum repens	66	27. 4. 11. 5.	—	0	0	
Bromus inermis	59	27. 4. 11. 5.	? 19. 5.	31	52,6	Conidien am 25. 5.
Hordeum distichum nutans	19	26. 4. 11. 5.	— —	0	0	
Avena sativa	11	30. 4.	—	0	0	

B. Pleospora von Triticum repens.

Geimpft auf	Wieviel Pflanzen?	Geimpft am	Erster Erfolg am	Ueberhaupt Erfolg an		Bemerkungen
				Wieviel Pflanzen?	%	
Bromus asper	6	27. 5.	—	0	0	
Triticum repens	116	27. 4. 13. 5.	13. 5. 24. 5.	81	69,9	Conidien u. Perithecien-Anlagen am 24. 5.
Bromus inermis	62	27. 4.	—	0	0	
Hordeum hexastich. erectum	42	27. 4. 6. 5.	— 24. 5.	1	2,3	
Avena sativa	16	6. 5.	—	0	0	

scheinungen waren dieselben wie bei Br. asper. Nur hatten die braunen Flecke wegen der Schmalheit der Blätter die ganze Breite derselben eingenommen, und die Blätter fingen von dieser Stelle an schlaff zu werden, blieben aber immer noch im vorderen Teile grün.

Die Uebertragung auf die Getreidearten gelang dagegen bis auf einen einzigen Fall nicht. Das von der Pleospora auf Triticum infizierte Blatt von Hordeum hexastichon erectum (welches vorher desinfiziert war) zeigte auf einer verblaßten Stelle mehrere streifenartige Linien, die von braunen Rändern eingefaßt waren, also Erscheinungen, wie sie von Helm. gramineum hervorgerufen werden. Die Uebertragung scheint

aber immerhin schwer zu gelingen; ob sie von praktischer Bedeutung ist, müßte durch weitere Untersuchungen genauer festgestellt werden.

Die bei Bromus und Triticum hervorgerufenen Krankheitsbilder sind den im ersten Teil genauer beschriebenen spontan auftretenden gleich; bei ersterer Pflanze wird stets nur ein Teil, bei der zweiten mindestens das ganze Blatt ergriffen.

Für Bromus inermis wäre noch der Nachweis zu führen, daß sich auch auf ihm aus den Helminthosporien Perithecien zu entwickeln imstande sind; vielleicht lassen sie sich auch im Freien noch auffinden. Das Helminthosporium dieses Grases ist wahrscheinlich mit dem von Bromus asper identisch.

4. Zusammenfassung der Ergebnisse.

Aus den im Vorhergehenden angeführten Reinkulturen und Infektionsversuchen ergeben sich folgende Resultate:

1) Die Helminthosporien von Bromus asper und Triticum repens gehören als Conidienformen zu den auf denselben Nährpflanzen vorkommenden Pleospora-Arten.

2) Sie sind nicht miteinander identisch, da sie sich nicht auf die andere Nährpflanze übertragen lassen.

3) Die Pleospora von Bromus läßt sich gar nicht, die von Triticum nur schwer auf Gerste oder Hafer übertragen; sie sind also wahrscheinlich auch nicht identisch mit Helm. gramineum Rabenh. (?), H. teres Sacc. und H. Avenae Br. et Cav.

4) Das Helminthosporium von Bromus inermis ist wahrscheinlich mit dem von Br. asper identisch.

Was nun die systematische Stellung der in Rede stehenden beiden Pleospora-Arten anlangt, so kommen in Betracht: Pleospora relicina (Fckl.) Wint. und Pl. trichostoma (Fr.) Wint. Der Unterschied zwischen diesen beiden Arten ist, wie schon Winter (Pilze I, II. Abt. p. 521) angiebt, ziemlich unbedeutend und bezieht sich nur auf die Sporengröße, die Schleimhülle der Sporen und die Borsten, welche die Perithecien bedecken. Diese letzteren werden für Pl. relicina von Winter (nach den Angaben Tulasnes) als conidientragend beschrieben. Bei den von mir untersuchten 2 Arten sind sie dies sicher nicht, ich habe in keiner Jahreszeit, trotz sehr häufiger Betrachtung, Conidien gefunden. Die Schleimhülle dagegen, welche Winter nur von Pl. relicina angiebt, über die sich aber bei trichostoma keine Bemerkung findet, ist bei unseren Pilzen stets vorhanden, wenn auch nicht immer gleich breit und gleich deutlich. Wenn die Sporen noch innerhalb der Asci liegen, kann man die Gallertscheide leicht übersehen, ebenso wenn man trockene Sporen untersucht. Ueberhaupt sind die Sporen ziemlich dünnwandig und scheinen gegen das Eintrocknen sehr empfindlich zu sein. Sowie die frischen Perithecien aus der feuchten Glasschale genommen wurden und einige Tage trocken gelegen hatten, waren die Sporen völlig zu-

sammengeschrumpft und nicht mehr keimfähig, so daß man sehr vorsichtig sein muß, wenn man für längere Zeit lebendes Material für Impfversuche zur Verfügung haben will. Dieses schnelle Eintrocknen dient auch zur Erklärung der äußerst verschiedenen Sporengröße, die von den Beobachtern angegeben werden:

Winter giebt für Pl. trichostoma an 44—50:17—20 μ
" " relicina 35—45:20—30 μ
Berlese " " trichostoma 57—62:20—24 μ
Dr. Rehm " " von Bromus 45:15—20 μ
" " " Trit. repens 35:15 μ
Ich habe gemessen für Pl. v. Bromus 59,4:22,4 μ (durchschn.)
" " " Trit. rep. 46,8:18,5 μ
dagegen an den von Herrn Medizinalrat Dr. Rehm freundlichst zum Vergleich gesandten Exsiccaten:
an No. 180 32,4:16 μ
" " 786 39 :20 μ, Nr. 592 besaß keine reifen Sporen.

Die lebenden Sporen scheinen danach nur von Berlese und mir gemessen worden zu sein, die übrigen Maße beziehen sich wohl auf trockenes Material[1]).

Die auffallendste Abweichung ist vorhanden im Verhältnis der Länge zur Breite bei Pl. relicina. So breite Sporen (im Verhältnis zur Länge) giebt sonst niemand an, und dieser Punkt im Verein mit den „conidientragenden“ Borsten des Peritheciums und dem Auftreten der letzteren „in lockeren Herden“ macht die Pl. relicina (Fckl.) zu einer sehr fraglichen Art. Herr Medizinalrat Dr. Rehm schreibt mir darüber: „Er (Winter) kennt kein Exemplar davon, ich auch nicht, ebensowenig die neueste Arbeit von Berlese, welcher nur Fuckel und Winter abschrieb“ — und ferner: „Ich bemerke noch, daß Berlese p. 34 erklärt, seine Beschreibung von Pl. trichostoma beruhe auf Untersuchungen von Exemplaren im Herb. Saccardo, welche Mad. Libert gesammelt und mit Pl. relicina bezeichnet hatte[2]).

Unsere Pilze dürften also zu Pl. trichostoma (Fr.) Wint. zu stellen sein; in die Winter'sche Beschreibung müßte aber eine Bemerkung eingefügt werden über die stets vorhandene, mehr oder weniger breite Gallerthülle, mit der die Sporen umgeben sind.

Da nun aber in entwickelungsgeschichtlicher Beziehung Unterschiede zwischen den beiden von mir untersuchten Pilzen bestehen (Bildung der Mycelverwachsungen bei den ersten Anlagen zu Perithecien, das verschiedenartige Auftreten der Conidienformen, sowie vor allem die Nichtübertragbarkeit auf die andere Nährpflanze)

---

1) Nach der Fortgabe des Manuskripts teilte mir Herr Medizinalrat Dr. Rehm gütigst noch Folgendes mit: Berlese hat keine frischen Exemplare untersucht. Die Sporengröße beträgt nach Exemplaren aus Zopf und Sydow, Myc. march. 62 (sub Pleospora phaeocomes) von Triticum repens: 55—65:20—24 μ, und Ellis N. Am. pyr. p. 733 giebt sie zu 44—50:17 bis 20 μ an.

2) Herrn Medizinalrat Dr. Rehm wiederhole ich auch an dieser Stelle für seine freundliche Auskunft und gütige Ueberlassung von Vergleichsmaterial meinen besten Dank.

so möchte ich die Pl. trichostoma als eine Sammelspecies auffassen, die in einzelne specialisierte Formen zu zerlegen ist in der Art, wie es mit den Getreide bewohnenden Puccinien geschehen ist. Von diesen spezialisierten Formen dürften durch weitere diesbezügliche Untersuchungen noch mehrere aufgestellt werden, ich kann nach den vorhergegangenen Ausführungen zunächst 2 derselben unterscheiden:

a) fsp. Bromi auf Bromus asper und inermis,
b) fsp. Tritici repentis auf Triticum repens.

Diese Spezialisierung müßte dann aber natürlich auch bei den Helminthosporien eintreten, wo die Stellung der in Frage stehenden Arten der gleichen Schwierigkeit begegnet. Ravn hat l. c. von diesem Pilz nach den Nährpflanzen und der Art des Auftretens 3 Arten unterschieden: Helminthosporium gramineum Rabenh., H. teres Sacc. und H. Avenae Br. et Cav. — alle 3 Arten sind vorher von verschiedenen Autoren zu H. gramineum Rabenh. gezogen worden. Nicht mit diesen 3 Arten identisch sind nun aber auf Grund der Nichtübertragbarkeit (die ja von Ravn selbst als Unterscheidungsgrund benutzt wurde) die Helminthosporien von Bromus und Triticum repens, die wiederum der Sporenbildung nach unzweifelhaft zu H. gramineum Rabenh. gehören. Wo sollten nun diese Formen untergebracht werden? Ich halte es auch hier von Vorteil, die Sammelspecies H. gramineum Rabenh. in spezialisierte Formen zu zerlegen. Nach der verschiedenen Art des Auftretens könnte man hier 2 Reihen unterscheiden:

I. „Rost"-artig auftretend, d. h. nur einzelne Teile der Blätter zerstörend:
   a) fsp. Hordeï nutantis = Helm. teres Sacc. auf Hordeum nutans.
   b) fsp. Bromi auf Bromus asper und inermis.

II. „Brand"-artig auftretend, d. h. die ganze Pflanze zerstörend:
   c) fsp. Hordeï erecti = Helm. gramineum Rabenh. bei Ravn auf Hordeum erectum.
   d) fsp. Tritici repentis auf Triticum repens.

In welche der beiden Reihen Helm. Avenae Br. et Cav. zu stellen ist, muß noch unentschieden gelassen werden, da die Untersuchungen Ravn's darüber nichts Sicheres darbieten.

Nachdruck verboten.

Ein Kasten für Bodenuntersuchungen.

[Aus dem Institut für landw. Pflanzenproduktionslehre. Abteilung für Bodenforschung.]

Von Dr. **R. Thiele**, Breslau.

Mit 1 Figur.

Seitdem durch die grundlegenden Arbeiten von Winogradsky, Fränkel und Caron die Aufmerksamkeit auf die Bakterienflora des Bodens gelenkt ist, hat man dieselbe auch in den Bereich der Forschung gezogen, und es sind zur Zeit die umfassendsten Versuche zur Gewinnung der interessanten Lebewelt in die Wege geleitet. Während man aus Luft und Wasser schon seit einem langen Zeitraum sowohl schädliche wie harmlos saprophytische Bakterien zu isolieren imstande ist, harrt diese Aufgabe hinsichtlich des Bodens noch der Erfüllung, und es wird daher derselbe das Untersuchungsobjekt der Gegenwart und Zukunft sein.

Die Methodik der Feststellung der Flora in den erstgenannten Medien ist aus besagtem Grunde auch eine ziemlich bekannte, während die Art und Weise der Bodenuntersuchung noch in den ersten Stadien der Entwickelung steht. Die Luft umgiebt uns allseitig und es entstehen bei der Probenahme derselben keine Schwierigkeiten, dagegen ist bei der Durchforschung des Wassers und Ackers das Material in den seltensten Fällen zur Hand, ja es muß oft aus der Ferne herbeigeschafft werden. Zur Gewinnung einwandfreier Wasserproben bedient man sich allgemein steriler Apparate, welche in einem wohlverschlossenen Kasten aufbewahrt werden. Auch bei der Entnahme des Bodens muß größte Vorsicht obwalten, um Neuinfektion durch Luft etc. zu vermeiden und denselben in unveränderlichem Zustande zu verarbeiten. Es muß daher unsere erste Sorge sein, steril zu entnehmen und zu transportieren. Dieser Forderung entsprang der Gedanke, in ähnlicher Weise vorzugehen wie bei der Wasseruntersuchung, also die notwendigen Apparate geschützt mitzuführen.

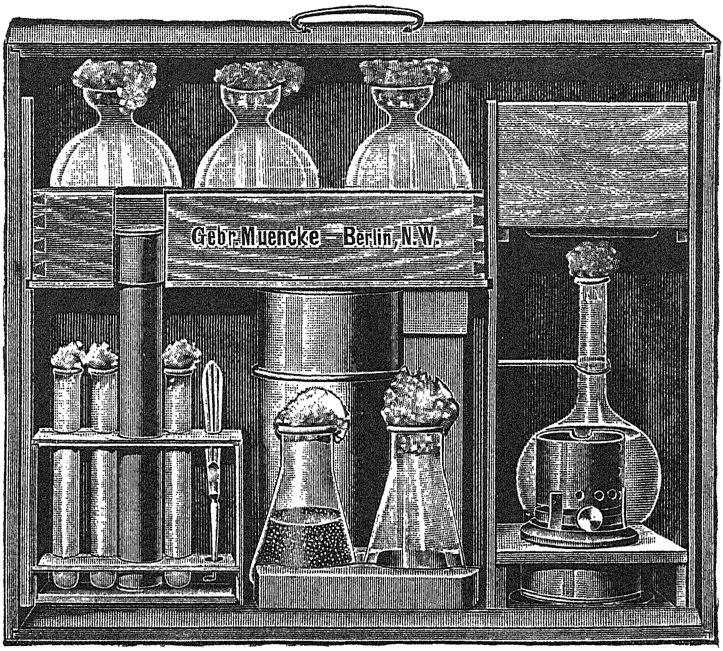
Von der Absicht geleitet, die betreffenden Utensilien auf einen möglichst kleinen Raum zusammenzubringen, konstruierte ich einen Kasten [1]) von 51 cm Breite, 25 cm Tiefe und 43 cm Höhe, dessen Breitseiten in Charnieren liegen und nach unten zu öffnen sind, so daß jede derselben eine Tischfläche bildet. Der Innenraum wurde nach Möglichkeit ausgenutzt und Ueberflüssiges vermieden.

Diejenigen Apparate (s. Abb.), welche bei der Sterilisation nicht des direkten Feuers benötigen, sind, um zur größtmöglichsten Entlastung beizutragen, aus Aluminium hergestellt, so die Pipettentasche, deren Gewicht 145 g beträgt, ferner der zur Aufnahme und Sterilisation der Petrischalen dienende Behälter, welcher 238 g und endlich die Büchse für Platinnadeln, welche 37,9 g wiegt.

Außer den genannten Gegenständen steht in dem Kasten eine aus Metall gefertigte Spirituslampe, welche, mit einem Schornstein

1) Derselbe wurde von Gebrüder Muencke, Berlin N. W., gebaut.

versehen, eine Sterilisation der Platinnadeln selbst bei einiger Luftbewegung gestattet. Hinter der Lampe befindet sich ein Kolben zur Aufnahme sterilen Wassers und in demselben Abschnitt ist ein Kasten angebracht, welcher außer einem kleinen Handspaten Notizblock, Streichhölzer, Etiquetten etc. enthält. Den oberen Teil der sich anschließenden größeren Abteilung füllt ein flacher Kasten aus, welcher aus einzelnen Fächern besteht, denen Flachkolben eingefügt sind. Diese zeigen insofern von den gebräuchlichen Flachkolben eine Abweichung, als das geschlossene Ende zugespitzt ist, so daß sich ein vorhandener Bodensatz leicht sammelt, während die überstehende Flüssigkeit bequem abgehebert werden kann. Gewissermaßen verankert wird der Kolbenkasten durch die Platin-



nadelhülse, die ihrerseits in dem darunter stehenden Reagenzglasgestell festen Fuß hat, welcher 29 Reagenzgläser zur Aufnahme kleinerer Erdproben birgt. In der 30. Oeffnung des Gestelles für die Reagenzgläser ist ein sog. scharfer Löffel eingelassen, welchen ich bei meinen Bodenuntersuchungen als Einheit benutze und welcher im Durchschnitt 0,1392 g lufttrockenen Boden faßt. Zur Seite des Reagenzglasständers steht die zum Transport der sterilen Petrischalen notwendige Tasche sowie diejenige der sterilen Wasserpipetten. Weiterhin befinden sich im Kasten einige dickwandige Erlenmeyer-Kolben, welche das Sterilisieren sehr gut vertragen.

Der Kasten hat seine entschiedenen Vorzüge insofern, als Platten an Ort und Stelle gegossen werden können. Selbst wenn kein Wasser zur Verflüssigung der Gelatine oder des Agar-Agar zur Verfügung steht, werden die Gläschen über der Spirituslampe

erwärmt und nach ihrer Abkühlung zur Herstellung der Platten benutzt. Ist die Anfertigung nicht sofort ratsam, so kann der in die Spitzkolben oder Reagenzgläser eingefüllte Boden vermittelst der sterilen Pipetten mit keimfreiem Wasser übergossen und mitgeführt werden.

Der Kasten hat mir bisher gute Dienste geleistet, und ich hoffe, daß er sich auch, falls er weitere Verwendung finden sollte, bewährt, jedenfalls ist sein Transport nicht schwierig, und da er aus dauerhaftem Material verfertigt ist, schadet ihm selbst ein starker Regen nichts.

Breslau, Juli 1902.

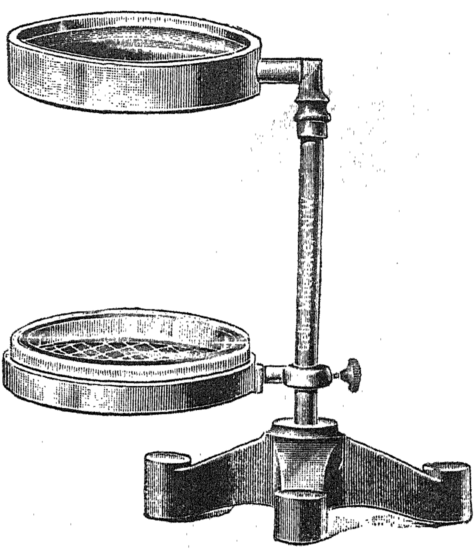
Ein neuer Zählapparat für Plattenkulturen.

[Aus dem Institut für landw. Pflanzenproduktionslehre. Abteilung für Bodenforschung.]

Von Dr. **R. Thiele**, Breslau.

Mit 1 Figur.

Nicht selten dient zur Vervollständigung eines Versuches über Bakterien die Angabe der Zahl derselben. Bekanntlich wird dieselbe durch die Platte mittels einer Lupe etc. festgestellt. Eine weitere Vervollkommnung der Lupen sind die Zählapparate, wie dieselben von Rozsahegyi, Mie, Wolffhügel, Heyroth u. a. kombiniert sind. Alle diese haben als Vergrößerungsglas die Lupe für ein Auge mit möglichst gering entferntem Focus. Das Zählen der Platten bietet dadurch aber verschiedene Schwierigkeiten, auch ist es nicht zu vermeiden, daß einige Kolonieen übersehen bezw. doppelt gezählt werden.



Um diesen Eventualitäten aus dem Wege zu gehen, ließ ich mir für mein Laboratorium einen Zählapparat [1]) anfertigen, wie nebenstehende Abbildung zeigt.

Der Apparat besteht aus einem kurzen dreifüßigen Stativ, dessen oberer Teil die Lupe bildet. Dieselbe besitzt abweichend von den bisherigen einen Durchmesser von ca. 10 cm und eine 6—8 fache Vergrößerung. Sie gestattet also ein bequemes Ar-

---

1) Von Gebrüder Muencke-Berlin hergestellt.

beiten mit beiden Augen. Weiterhin ist die Entfernung von der Platte, welche auf einem beweglichen, in Quadrate [1]) geteilten Tisch [2]) ruht, eine derartige, daß mittelst einer Zeichenfeder die Kolonieen auf dem Glase durch Punkte gezeichnet werden können, so daß also ein Verzählen nicht möglich ist.

Der Apparat ist leicht zu handhaben, und die mit ihm erzielten Resultate haben seinen Vorzug deutlich zu Tage treten lassen.

Breslau, Juli 1902.

Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Institut für Gärungsindustrie, Berlin.

Henneberg, W., Ueber das Verhalten von Amylomyces *β* in Kartoffelmaische und in anderen stärkehaltigen Flüssigkeiten. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1902. p. 19—29. Mit 1 Tafel.)

Der unter dem Namen Amylomyces *β* von Colette und Boidin beschriebene, zu den Mucor-Arten gehörende Schimmelpilz ist bekanntlich infolge seines hohen Diastasegehaltes in verschiedenen Maisbrennereien des Auslandes mit gutem Erfolge zur Anwendung gekommen. Für die Praxis ist die Frage von großem Interesse, ob sich dieser Pilz an Stelle von Malz auch in Kartoffelmaische bewährt. Es sind daher in der Versuchsbrennerei und im botanischen Laboratorium des Institutes für Gärungsgewerbe zu Berlin hierüber Versuche angestellt worden, über deren Ergebnisse hier berichtet werden soll.

Außer Kartoffelmaische wurden auch Stärkelösungen in Hefewasser, Malzkeimwasser und mineralischen Nährlösungen auf dieselbe Weise untersucht.

Die Versuchseinrichtungen waren dieselben wie die von der Amylogesellschaft in Antwerpen in der Fabrik im Großen angewandten. In der Versuchsbrennerei wurden in 2 je 23 hl fassenden, im Laboratorium in 4 je 6 l fassenden Bottichen diese Untersuchungen ausgeführt. Die Bottiche waren so eingerichtet, daß ihr Inhalt sterilisiert, gerührt, gelüftet, erwärmt und abgekühlt werden konnte. Durch besondere Vorrichtungen konnte die Impfung mit dem Schimmel und der Zusatz von Hefe geschehen, sowie zu jeder Zeit eine Probeentnahme stattfinden. Die Einrichtungen erlaubten ein Arbeiten mit absoluter Reinkultur.

Die meistens im Henzedämpfer unter Druck aufgeschlossene Maische wurde mit wenig Malz in kurzer Zeit verflüssigt. Nach dem Sterilisieren unter Druck (gewöhnlich 2 Atm. 1 Stunde) wurde die Maische mit den Sporen des auf Reis in einem besonderen Kolben herangezüchteten Pilzes geimpft. Zur Ver-

---

1) Die Teilung geschieht auch in Sextanten.

2) Neuerdings habe ich die grobe Einstellung durch Trieb, wie bei den Mikroskopen üblich, anfertigen lassen, auch ist der die Platte tragende Teil des Tisches drehbar, sodaß eine Platte nach den verschiedenen Seiten bewegt werden kann.

hütung des Oberflächenwachstums des Schimmelpilzes mußte die Maische beständig gerührt werden. Innerhalb der ersten 24 Stunden wurde die Maische mit steriler Luft gelüftet, wobei die Temperatur auf 39° C eingehalten wurde. Nach dieser Zeit wurde die in (1 l für 20 hl Maische) Würze herangezüchtete Reinhefe zugesetzt, welche die Maische in 4 Tagen vergärt.

Das Interessante an diesem Amyloverfahren ist, daß im Großen mit absoluten Reinkulturen gearbeitet wird. Daß dies möglich ist, haben die Versuche gezeigt. Wie von vornherein aber anzunehmen ist, liegt hier für die Praxis eine große Gefahr. Die Maische ist völlig ungeschützt und die kleinste Bakterieninfektion muß die ganze Masse infizieren. Viele Versuche ergaben, daß der Pilz gegen manche Bakterienarten äußerst empfindlich ist.

Das Wachstum des Schimmelpilzes unter diesen Bedingungen ist je nach der Art der Kulturflüssigkeit und der Herstellung derselben ein verschiedenes. In hoch und lange erhitzten Kartoffelmaischen bildet sich aus jeder Spore eine 1—4 mm breite runde Mycelmasse, deren einzelne Fäden eine unzählige Menge von Gemmen aufweisen. Unter etwas günstigeren Bedingungen wachsen die Sporen zu seesternförmigen Gebilden aus. Von der festeren, dichteren Mitte gehen 4, 6 oder mehr fädige Mycelmassen strahlenförmig aus. Die Zahl und Länge der Strahlen, sowie die Größe der Mittelstücke variieren in den einzelnen Versuchen; in den einzelnen Kulturgefäßen herrschte aber meistens eine auffallende Gleichmäßigkeit. Ein gänzlich anderes Aussehen hatten die einzelnen Mycelmassen in Maismaischen und den weniger hoch erhitzten Kartoffelmaischen. Hier waren es 5—20 mm lange fädige Massen, die entweder eine gleichmäßige Breite hatten oder von der Mitte aus nach beiden Enden sich zuspitzten und so eine schnurrbartförmige Gestalt annahmen. Die vierte Form, in der das Mycel zur Beobachtung kam, war die Flockenform. Letztere fand sich fast stets in Hefewasser- und Malzkeim-Stärkelösungen. Auf der dem Original beigefügten Tafel sind diese Formen durch Photogramme (Lindner) wiedergegeben.

Ueber die Art der geprüften Maischen und der Stärkelösungen, sowie über die Ergebnisse der Versuche mag folgende Uebersicht hier gegeben sein.

1) Maismaische 12° Bllg. Die Maische war, wie die folgenden Fabrikversuche mit Kartoffelmaische, 20 Min. bei $^1/_2$ Atm. sterilisiert (erwies sich als zu wenig). Fabrikversuch (Dr. Werner). Bis zum 4. Tage war die Stärke völlig verschwunden, die Vergärung am 5. Tage bis 0. — Die Laboratoriumsversuche zeigten dasselbe. Ohne Hefezusatz war bis zum 14. Tage 4 Vol.-Proz. Alkohol entstanden.

2) Kartoffelmaische. Die von Dr. Werner, Chemiker der Amylogesellschaft angestellten Fabrikversuche waren zum größten Teile durch Bakterien infiziert, die zum Teil das Wachstum des Schimmels bedeutend hemmten. In einigen Versuchen trat mit Jod keine Stärkereaktion mehr ein. Da trotzdem die Vergärung der

12—15° Balling-Maische im besten Falle nur bis 2° Bllg. herunterging, so erscheint es möglich, daß unvergärbare Dextrine sich gebildet hatten.

Im Laboratorium wurden folgende Untersuchungen mit Maische und Stärkekleisterlösungen angestellt:

a) Die Kartoffelmaische 12° Bllg. wurde im Henzedämpfer bei 3—4 Atm. aufgeschlossen, darauf $^1/_4$ Stunde mit 1-proz. Malz bei 70° wenig verflüssigt.

Verschiedenen Versuchen wurde Kalisalpeter, schwefelsaures Ammonium, Pepton, Hefeextrakt, Maismaische oder verschiedene Mengen Wasser zugesetzt.

Ergebnisse: Nur Maismaische, Pepton und Wasserzusatz begünstigen die Verzuckerung. Die durch den Pilz (ohne Hefezusatz) erzeugte Alkoholmenge schwankt zwischen 0,7 und 2,7 Vol.-Proz., und zwar ist sie desto größer, je besser das Wachstum ist. Eine merkliche Säurezunahme findet nicht statt.

b) Die im Henzedämpfer bei 3—4 Atm. aufgeschlossene 23,7; 19,5; 12,1° Bllg.-Maische wurde 1 Stunde mit 0,6-proz. Malz bei 70° C gut verflüssigt. Zusätze von Wasser, Dextrose, Pepton, Maismaische, Haferschrot oder Hefeextrakt wurden in den einzelnen Versuchen geprüft.

Ergebnisse: Pepton und Haferschrotzusatz befördern, Dextrose verzögert die Verzuckerung. Ohne Hefe bildet der Pilz 2,4—2,7 Vol.-Proz. Alkohol. Auf die Gärkraft des Pilzes und auf die Endvergärung (im besten Falle bis 1,6° Bllg. nach Zusatz von Hefe) hat Stickstoffzusatz in diesen Versuchen keinen besonderen Einfluß.

c) Die Kartoffelmaische 12,7° Bllg. war 1 Stunde mit 1-proz. Malz bei 62° C behandelt, so daß nicht mehr Stärke, sondern nur noch Dextrin vorhanden war. Eine gewisse Menge von Maismaische wurde einigen Versuchen zugesetzt.

Ergebnisse: Der größere Zuckergehalt ist ohne besonderen Einfluß. Die Maische vergärt nach Schimmelpilzbehandlung mit Hefezusatz bis 1,3° Bllg. und ohne Schimmel mit Hefe allein bis 3,6° Bllg.

d) Dieselbe Maische wie bei c, doch hatte die Aufschließung nicht bei 3—4 Atm., sondern bei 2 Atm. in 20 Minuten stattgefunden. 23—13,4° Bllg. Zusatz von Pepton in einigen Versuchen.

Eine 13,4 Bllg.-Maische wurde nicht unter Druck (wie bisher 1 Stunde bei 2 Atm.), sondern nur bei 100° C sterilisiert.

In einigen Versuchen war der Schimmelpilz nicht auf Reis wie bisher, sondern auf Kartoffelmaischeagar herangezüchtet.

Ergebnisse: Das Wachstum des Schimmels ist desto schlechter, je höher die Maische erhitzt wurde. Der Pilz erzeugt nur 0,5—1,2 Vol.-Proz. Alkohol. Die ohne Schimmel bis 9,2° Bllg. (von 13° Bllg.) vergärende Maische vergärt nach Behandlung mit diesem bis 1° Bllg. Die Herzucht ist ohne merklichen Einfluß.

e) Die Kartoffelmaische wurde nicht unter Druck aufgeschlossen und sterilisiert. 9,3° Bllg. Die Verflüs-

sigung fand durch 1-proz. Malz bei 70° C in 1/2 Stunde statt. Es wurde bei 100° C sterilisiert. Die Zusätze von Caseïn, Pepton, Roggenschrot, schwefelsaurem Ammonium, Rohrzucker und Wasser wurden geprüft.

Ergebnisse: Das Wachstum ist viel üppiger. Bei Roggenschrotzusatz ist schon am 2. Tage die Verzuckerung beendigt. Rohrzuckerzusatz lähmt die Verzuckerung. Die Vergärung ist im besten Falle bis 0,9° Bllg. Nach Zusatz der Hefe geht die Verzuckerung noch weiter.

3) Stärkekleister. Es wurde 10-proz. Kartoffelstärkekleister bei 70° C mit 1-proz. Malz in 5—10 Minuten verflüssigt. Die Sterilisation erfolgte bei 100° C.

a) In Hefewasser. Zusätze von Pepton, Caseïn und Asparagin wurden geprüft.

Ergebnisse: Das Wachstum ist sehr üppig, trotzdem geht die Verzuckerung nur langsam vor sich. Stickstoffzusatz hat keinen besonderen Erfolg. Die Alkoholmenge schwankt zwischen 0,5—1,8 Vol.-Proz.

Im besten Falle geht die Endvergärung bis 0,1° Bllg.

b) In Malzkeimwasser. Ein 3- und 10-proz. Malzkeimwasser und Peptonzusatz wurde geprüft.

Ergebnisse: Das Wachstum ist sehr üppig. Die Verzuckerungskraft steht nicht damit im Einklang. In 4 Tagen hat sich ohne Hefezusatz 2,3 Vol.-Proz. Alkohol gebildet. Am 3. Tage ist die Verzuckerung beendigt.

c) In drei verschiedenen mineralischen Nährlösungen. Pepton, Roggenschrot und Caseïnzusatz wurde untersucht.

Ergebnisse: Wachstum und Verzuckerung ist sehr ungünstig. Nur 0,6—0,7 Vol.-Proz. Alkohol bildet sich.

Außer diesen Versuchen mit untergetaucht wachsendem Mycel wurden verschiedene Versuchsreihen mit oberflächlich wachsendem Mycel angestellt.

Die Ergebnisse waren folgende:

Kartoffelmaische, die bei 3—4 Atm. erhitzt ist, lähmt das Wachstum in hohem Grade. Wenn die Maische auf 5—6 Atm. erhitzt ist, findet überhaupt keine Entwickelung mehr statt. Aehnlich ist es bei Getreidemaische mit Zucker- und Peptonzusatz. Zusätze von Stickstoffkörpern oder von Zucker und Wasser heben die Einwirkung der hoch erhitzten Maische nicht auf. Kreidezusatz verbessert das Wachstum beträchtlich. Bei dem Erhitzen der Maische auf 3—4 Atm. findet eine Säurezunahme statt. Der entwickelungshemmende Stoff ist also saurer Natur.

Die zugleich eintretende Karamelisierung ist nach den bisherigen Untersuchungen ohne schädigenden Einfluß.

Da die Maische durch Erhitzen auf 1 Atm. in 1 Stunde steril ist, so darf bei dem Sterilisieren nicht höher erhitzt werden.

Die Versuche über das beste Wachstum und den

höchsten Diastasegehalt fanden in natürlichen Lösungen (Hefewasser, Malzkeimwasser) und in künstlichen Nährlösungen statt.

Die beste künstliche Nährlösung enthält 0,5-proz. s. phosphors. Kalium, 0,2 schwefelsaures Magnesium, 0,02 Chlorcalcium, 1 Pepton (oder 0,5 Asparagin), 3 Dextrose (oder 1-proz. Stärke oder beides zusammen). Meistens sind diese Nährlösungen bei weitem ungünstiger als Hefewasser etc.

Pepton ist günstiger als anorganische Stickstoffverbindungen. Pepton und viel Stickstoff befördern die Verzuckerungskraft. Wenn Zucker neben Stärke vorhanden ist, so geht die Verzuckerung der letzteren viel langsamer vor sich als ohne Zucker.

In Maische, auf der der Pilz eine feste zusammenhängende Decke gebildet hatte, war 4,8 Vol.-Proz. Alkohol festzustellen.

Bei den Untersuchungen über die Verzuckerungskraft des Mycels ergab sich folgendes:

Ein in Peptonlösungen gewachsenes Mycel ist reichhaltiger an Diastase als ein ohne Pepton herangezüchtetes.

Die Mycelmassen aus Kartoffelmaische und Stärkekleisterlösungen in Hefewasser und Malzkeimwasser zeigen in Bezug auf den Diastasegehalt keine besonderen Unterschiede. Das auf der Oberfläche gewachsene Mycel hat ebenfalls gute Verzuckerungskraft.

Das Mycel, das in Lösungen ohne Stärke gewachsen war, hatte wenig Diastase, bildete aber solche in Stärkelösungen sehr schnell wieder in reichlicher Menge. Die Diastase scheint nach einigen Versuchen besser bei 50° zu wirken als bei 39° C. In der Kulturflüssigkeit ist Diastase nicht oder nur sehr wenig nachzuweisen.

Lebendes und trockenes Mycel giebt mit Wasserstoff und Guajak deutliche Blaufärbung.

Das Trocknen des Mycels schwächt die Verzuckerungskraft anscheinend nicht.

Bei der Stärkeagarprobe ist nach Jodzusatz um die verzuckerte Zone fast stets ein mehr oder weniger breiter roter Ring zu sehen, der nach außen durch eine hellblaue Schicht begrenzt wird.

Außer Diastase enthält das Pilzmycel noch stärkeverflüssigende Eigenschaften und Invertin. Lebendes Mycel verflüssigt die Gelatine.

Die Versuche über den Einfluß von Säure auf den Pilz ergaben, daß schon 0,05 Proz. Schwefelsäure und 0,5 Proz. Milchsäure das Wachstum verzögern, 0,1 bezw. 1,5 Proz. solches verhindern.

Als Hauptergebnisse für die Praxis wurden folgende Sätze zusammengefaßt:

1) Maismaische ist auch nach dem Aufschließen bei 3—4 Atm. für den Pilz sehr günstig.

2) In der Kartoffelmaische entstehen bei 3—4 Atm. Stoffe saurer Natur, die die Entwickelung des Pilzes

bedeutend hemmen. In weniger hoch erhitzten Kartoffelmaischen dürfte die Anwendbarkeit des Pilzes, soweit bisher die Versuche zeigten, möglich sein.

3) Die leicht sich einfindenden Bakterieninfektionen bilden einen großen Uebelstand des Amyloverfahrens, da der Pilz gegen manche Bakterienarten sehr empfindlich ist.

Henneberg.

Aus dem bakteriolog. Laboratorium der schweiz. landw. Versuchs- und Untersuchungsanstalten auf dem Liebefeld bei Bern.

Ein neuer, aus Stroh isolierter, „das Fadenziehen" der Milch verursachender Coccus (Carphococcus pituitoparus)[1].

Von **J. Hohl.**

Damit beschäftigt, aus Streuestroh denitrifizierende Mikroben zu isolieren, konnte ich auf Gelatineplatten zahlreiche Kolonieen beobachten, die mir ihres eigenartigen Aussehens wegen auffielen und mich zu ihrer eingehenderen Untersuchung veranlaßten.

Das Stroh, mit dem ich arbeitete, war Ballen-Preßstroh französischer Provenienz, das in den Kuhstallungen der Gutswirtschaft der Versuchsanstalt Liebefeld eben für den Gebrauch bereit gestellt worden war. Mit abgeflammter Zange wurden Halmstücke dem Innern des Ballens entnommen, in ein steriles Reagenzglas gebracht und unmittelbar hierauf im Laboratorium zur Impfung verwendet. Hierzu wurden dort sterile Erlenmeyer bereit gehalten, die 50 ccm einer nach Giltay und Aberson hergestellten Nährlösung für denitrifizierende Bakterien enthielten (Burri und Stutzer, Ueber Nitrat zerstörende Bakterien, Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. II. Abt. Bd. I. 1895. p. 393). Die reichlich eingeimpften Halmstücke bewirkten innerhalb 3 Tagen eine starke Schaumbildung und die vollständige Vergärung des Salpeters. Dieser denitrifizierten Nährlösung wurde das Impfmaterial für Gelatineplatten entnommen, auf denen sich dann, natürlich nebst vielen anderen, in erheblicher Zahl die eingangs erwähnten Kolonieen zeigten, die sich beim Anstechen mit der Platinnadel als in hohem Maße „fadenziehend" erwiesen. Von diesen Kolonieen wurde wenig Material mit der Platinöse in sterile Milch übertragen. Bei einer gelegentlich vorgenommenen Kontrolle zeigte sich die Milch, ohne geronnen zu sein, sehr stark fadenziehend. Daraufhin folgte die genauere Prüfung des Mikroorganismus auf seine morphologischen und kulturellen Eigen-

1) Landw. Jahrbuch der Schweiz. 1902.

schaften, auf sein biologisches und physiologisches Verhalten und auf seine chemische Leistungen hin. Die Ergebnisse der Untersuchung finden sich in den nachstehenden Ausführungen kurz zusammengestellt:

Mikroskopisches Aussehen.

Die Größe der Kokken differiert auf den verschiedenen Nährböden unerheblich. Der Durchmesser beträgt im mit Fuchsin gefärbten Präparat im Mittel 1 μ; die kleinsten Kokken messen 0,7 bis 0,8 μ, die größten 1,3 bis 1,5 μ (Zeiß, Apochromat 2,0 mm, Apert. 1,30, Kompens.-Okular 6). In einem am 13. Juni aus einem Gelatinestich vom 22. März a. c. angefertigten Präparate zeigten sich ganz vereinzelte Kokken mit 2 μ Durchmesser, die wohl als Involutionsformen anzusehen sind. Hier und da erscheinen auch nicht ganz isodiametrische, ganz leicht gestreckte Formen, die oft mit den längeren Seiten zu zweien aneinander liegen. Der ausgesprochene Kokkentypus ist aber vorherrschend. Eigentliche streptokokkenartige Gebilde konnte ich nie beobachten. In aus älteren Gelatinestichkulturen angefertigten Präparaten erscheinen nicht selten langgestreckte, mit schwach bauchigen Auftreibungen versehene Involutionsformen. Auch treten fadenartig aussehende Gebilde auf, die, wie sich aus der Vergleichung vieler Präparate ergiebt, dadurch entstehen, daß eine Anzahl hintereinander liegender Kokken sich strecken und an der Berührungsstelle verschmelzen, so daß scheidende Membranen nicht mehr sichtbar, wohl aber noch kreissegmentförmige Ausbauchungen erkennbar sind. Daß es sich hier thatsächlich um Involutionsformen und nicht etwa um zufällige Verunreinigungen handelt, ergiebt sich aus der Thatsache, daß wiederholt angelegte Gelatineplattenkulturen, für die das Impfmaterial älteren, die beschriebenen anormalen Formen enthaltenden Gelatinestichkulturen entnommen wurde, stets nur Kolonieen des Carphococcus aufwiesen. Die von diesen angelegten Kulturen ergaben dann mit der Zeit wieder solche Involutionsformen.

Eigenbewegung.

Eigenbewegung konnte ich in keinem der zahlreich angefertigten Präparate nachweisen. Wenn solche vorhanden zu sein schien, ergab die genaue Prüfung bloße Molekularbewegung.

Färbbarkeit.

Das Färben gelingt leicht und scharf mit den gebräuchlichen Anilinfarben.

Ansprüche an Temperatur.

Es wurden Parallelkulturen in verschiedenen Nährböden bei 20°—21° C und bei 28°—30° C gehalten. Das kräftigste Wachstum zeigte sich durchgehends bei 20—21° C.

Wachstum auf den verschiedenen Nährböden.

Der Organismus wächst auf allen allgemein verwendeten Nährböden.

Auf Gelatineplatten, im Brutraum bei 20° C gehalten, zeigen sich nach 3 Tagen in der Tiefe gelblichbraune, runde Kolonieen von 0,5 mm Durchmesser mit schwach gelapptem Rande, während die Oberflächenkolonieen rund, ganzrandig, weißlich und fettglänzend sind und einen Durchmesser von 1 mm erreichen. Bei schwacher, 100facher Vergrößerung erscheinen die Kolonieen der Tiefe gelblich-braun, mit leicht bis ausgeprägt lappigem Rande, wobei die Einschnitte oft deutlich radiär verlaufen und die Kolonie ein rosettenartiges Aussehen annimmt. Eine feine dunkle Punktierung ist erkennbar. Hier und da zeigen die Oberflächenkolonieen eine radiäre Streifung und weisen nicht selten ein dichteres Centrum auf. Dem unbewaffneten Auge erscheinen die Kolonieen auf einer 17 Tage alten Gelatineplatte als rund, oft in Rosettenform, weißlich, fettglänzend, nie opalisierend oder perlmutterschimmernd. Ihr Durchmesser übersteigt kaum 1 mm. Die Kolonieen sind stark fadenziehend. Das ihnen entnommene Material läßt sich nur schwer auf dem Deckglas ausstreichen.

Gelatinestich. In 10 cm mächtiger Schicht zeigt sich zunächst bis auf halbe Tiefe oder bis auf ihr Drittel fadenförmiges Wachstum, das später mehr bandförmig, nach unten zu rasch spitz auslaufend wird. Der Rand des Bandes wird geperlt und isolierte kleine, kugelige Kolonieen bilden sich auch in der Spitzenfortsetzung des Banddreiecks. Um die Einstichöffnung herum entsteht ein weißlicher, fettglänzender Belag, der zunächst ganzrandig ist, später aber größere, tief eingeschnittene Lappen, die oft wieder gekerbt sind, zeigt. Die Auflagerung erreicht die Glaswand nicht. — Die Gelatine wird nie verflüssigt.

Auch werden Gelatinestichkulturen, 10 Tage lang im Brutraum bei 30° C aufbewahrt, wobei die Gelatine natürlich schmilzt, nach dem Einstellen bei 20° C in kurzer Zeit wieder bleibend fest. Dies beweist, daß auch in der Wärme kein gelatinelösendes Enzym gebildet wird. Die durch die Wärme flüssig gewordene Gelatine erwies sich als stark fadenziehend.

Agarstich. Fadenförmiges bis schwach bandförmiges Wachstum in den oberen zwei Dritteln des Stichkanals. Fast auf der ganzen Oberfläche bildet sich ein weißlich-grauer, fettglänzender Belag mit gewelltem Rande.

Agarstrich. Dem ganzen Strich entlang entsteht eine weißlich-graue, fettglänzende, streifenförmige Auflagerung mit welligem bis schwach lappigem Rand. Allmählich bildet sich eine dünne Zuwachszone mit fransigem Borde.

Auch die Agarkulturen sind stark fadenziehend.

Bouillonkultur. Die Bouillon trübt sich weißflockig. Es entsteht ein weißlich-grauer Bodensatz, der beim Schütteln in zusammenhängenden, spiralig gedrehten Strängen, die noch mit feinen Fäden am Boden des Kolbens haften, aufwirbelt. Die

Bouillon wird innerhalb 3 Tagen stark fadenziehend; sie bildet eine zähe, schleimige Masse von großer Viskosität.

Milchkulturen. Sterilisierte Milch wurde am 30. April 6h p mit dem Coccus geimpft und erwies sich am 1. Mai 8h a, also nach 14 Stunden, in den obersten Schichten stark fadenziehend, während sich die tieferen noch intakt zeigten. Am Morgen des 29. April geimpfte sterilisierte Milch war am Morgen des folgenden Tages in der ganzen Masse stark fadenziehend. Es gelang, Fäden von 1 m bis $1^1/_2$ m zu erhalten. Sterilisierte Milch wird durch den Carphococcus nicht zum Gerinnen gebracht. 5 Monate alte Kulturen zeigen eine homogene weißlich-helle, in einzelnen Gläsern schwach gelblich getönte schleimige Masse, aber durchaus keine Ausscheidung von Molken. Die Reaktion dieser stark fadenziehenden Masse ist schwach alkalisch. Die Reaktion der sterilisierten, fadenziehenden Milch ist noch nach 3 Monaten ausgesprochen amphoter und wird nachher in schwach sich steigernder Weise alkalisch, aber nie sauer. Geruch und Geschmack zeigen keine auffallenden Veränderungen.

Impfmaterial aus einer 5 Monate alten Milchkultur bewirkte noch starkes Fadenziehen sterilisierter Milch innerhalb 24 Stunden.

Von besonderem Interesse mußte es sein, festzustellen, ob und in welchem Maß unser Mikroorganismus befähigt sei, frische, nicht sterilisierte Vollmilch fadenziehend zu machen. Zu diesem Zwecke wurden vier mit noch kuhwarmer Milch beschickter Reagenzgläser mit dem Coccus geimpft und dann je zu zweien bei 20° C und 34° C eingestellt.

Die bei 20° gehaltene Milch erwies sich nach 24 Stunden als fadenziehend bei amphoterer Reaktion. Nach 2 Tagen wurde die Reaktion sauer; die Milch war geronnen, der Rahm nicht, die Molke nur ganz schwach fadenziehend.

Die bei 34° eingestellte Milch war innerhalb 24 Stunden nur ganz schwach fadenziehend geworden. Am 2. Tage war sie geronnen, schwach sauer und nicht mehr fadenziehend.

Kartoffelkultur. Auf Kartoffelscheiben erhielt ich weder bei 20° noch bei 30° ein kräftiges, typisches Wachstum. Es bildete sich dem Impfstrich entlang ein spärlicher, weißlich-grauer, leicht höckeriger, fettglänzender und fadenziehender Belag.

Sauerstoffbedürfnis.

Im Stichkanal in hoher Agar-Doppelschicht findet kein Wachstum statt.

Widerstand gegen Wärme.

Erhitzt man Material aus frischen Kulturen in sterilisierten Kapillarröhrchen im Wasserbad und überimpft dann deren Inhalt in Nährbouillon, so ergiebt sich, daß nach einer 5 Minuten dauernden Aussetzung einer Temperatur von 65° C nach 1 Tag noch kräftiges Wachstum, daß aber keine Entwickelung mehr auftritt nach einem 5 Minuten langen Einwirken einer Temperatur von 70° C.

Widerstand gegen Desinficientien.

Als Antiseptikum wählte ich Lysol, weil solches in der landwirtschaftlichen Praxis ja vielfach gebraucht wird. Sterilisierte Stückchen Filtrierpapier gleicher Größe wurden mit frischen Bouillonkulturen des Coccus infiziert, dann eine bestimmte Zeit lang in Lysollösungen verschiedener Konzentrationen gelegt, hierauf mit sterilisiertem Wasser abgespült und dann in Bouillon übergeimpft. Die Abtötung des Coccus wurde erreicht in 1-proz. Lysollösung nach 30 Minuten und in 4-proz. Lysollösung nach 5 Minuten.

Chemische Leistungen.

In Nährbouillon mit 0,2 Proz. Zusatz von KNO^3 erfolgt bei üppigem Wachstum keine Reduktion der Nitrate zu Nitriten.

In Bouillonkulturen konnte kein Indol, dagegen die Bildung von H_2S nachgewiesen werden. Milchzucker und Dextrose werden nicht vergoren.

Ueber die chemische Natur des gebildeten Schleimes konnte ich noch keine Untersuchungen anstellen. Ob derselbe das Produkt der Verquellung der Bakterienmembran ist, oder ob er aus einer Umwandlung des Milchzuckers in eine schleimige Substanz hervorgeht, oder ob er endlich aus dem Caseïn der Milch abgespalten wird, muß daher an dieser Stelle noch unerörtert bleiben. Doch verdient hervorgehoben zu werden, daß unser Organismus nicht bloß zuckerhaltige Nährböden, sondern auch gewöhnliche Bouillon und Gelatine in gleich hohem Grade fadenziehend macht und daß die stark fadenziehend gewordene Milch bei qualitativer Prüfung noch eine starke Zuckerreaktion ergiebt.

Versuch einer Identifizierung.

Es sind in der Litteratur bis jetzt, einige freilich nur lückenhaft, 16 Mikroorganismen beschrieben worden, die in höherem oder geringerem Grade die Fähigkeit besitzen, die Milch fadenziehend zu machen. Bei der Vergleichung mit unserem Organismus fallen im voraus alle diejenigen Bakterien außer Betracht, welche die typische Stäbchenform besitzen, sowie auch alle diejenigen Kokken und Stäbchen, die eine saure Reaktion der Milch hervorrufen und die die Gelatine verflüssigen.

Ihrer Stäbchenform und Säurebildung wegen sind von der Vergleichung ausgeschlossen: Bacillus viscosus Leichmann, Bacterium lactis longi, Bacillus lactis pituitosi Loeffler, Bacillus viscosus I und II Van Laer, Bacterium Hessii, Bacillus Guillebeau C., Actinobacter du lait visqueux und Actinobacter polymorphus Duclaux.

In Betracht könnte hier bloß kommen der Bacillus lactis viscosus von Adametz, da dieser die Form gerundeter, kokkenähnlicher Kurzstäbchen besitzt und das Fadenziehen der Milch bei amphoterer Reaktion bewirkt. Es ergeben sich aber zwischen ihm

und dem von mir aus Stroh isolierten Coccus wesentliche Unterschiede. In allen Präparaten der jungen Kulturen meines Organismus sieht man nur ausgeprägte Kokkenformen. Auf den Gelatineplatten erreichen die größten Kolonieen des Carphococcus bloß einen Durchmesser von wenig mehr als einem Millimeter und nicht 1—2 cm. Sie zeigen in auffallendem Licht nie ein Farbenspiel, keinen Perlmutterschimmer, kein an Jahresringe der Bäume erinnerndes Aussehen und nie eine zackige Umrandung. Dann soll Bacillus lactis viscosus wenig Indol und keinen H_2S bilden, während der hier beschriebene Coccus sich gerade umgekehrt verhält, in Bouillon kein Indol, aber H_2S erzeugt.

Aus der Abteilung der Kokken brauchen schon ihrer Säurebildung wegen nicht zur Vergleichung herangezogen zu werden: Streptococcus Nocard und Mollerau, Micrococcus lactis pituitosi Schmidt-Mühlheim, Micrococcus Hueppe, Diplococcus liodermus Schütz-Ratz, Streptococcus hollandicus, Micrococcus Freudenreichii Guillebeau.

Morphologisch besteht eine große Aehnlichkeit zwischen Micrococcus Freudenreichii Guillebeau und dem aus Stroh isolierten Coccus, nur ist der letztere durchgehends etwas kleiner. Kulturell und bezüglich ihrer chemischen Leistung sind sie aber scharf geschieden. Micrococcus Freudenreichii bewirkt Säurebildung in der Milch, verflüssigt Gelatine stark, reduziert Nitrate zu Nitriten und ist im Agarstrich ausgesprochen gelblich gefärbt.

Aus dieser Vergleichung ergiebt sich, daß der von mir aus Stroh isolierte Coccus bisher noch nicht bekannt war und beschrieben worden ist. Ich glaube daher, berechtigt zu sein, ihm eine besondere Benennung zu geben und möchte den Namen Carphococcus pituitoparus vorschlagen. In dieser Bezeichnung sollen zum Ausdruck kommen Herkunft, Gestalt und die Fähigkeit des Mikroben, die gebräuchlichen Nährböden, nicht blos die Milch, in hohem Maße schleimig zu machen. (*Καρφός* = Stroh; pituitoparus = schleimerzeugend.) Die Speciesbenennung pituitoparus wurde gewählt in Anlehnung an die schon eingeführten Bezeichnungen Bacillus lactis pituitosi und Micrococcus lactis pituitosi.

Ich beabsichtigte noch, um die Bedeutung des Coccus als Milchschädling festzustellen, Milch direkt mit Stroh gleicher Herkunft zu impfen. Leider war mir dies nicht mehr möglich, da inzwischen der ganze Vorrat an solchem aufgebraucht worden war.

Man wird aber, wenn es sich künftig darum handelt, die Herkunft der das Fadenziehen der Milch verursachenden Mikroben festzustellen, auch das Streustroh in die Untersuchung einzubeziehen haben.

Herrn Dr. v. Freudenreich, dem Vorstand des bakteriologischen Laboratoriums der schweizerischen landwirtschaftlichen Versuchsanstalt auf dem Liebefeld bei Bern, bin ich für mir bei meiner Untersuchung stets erteilte wertvolle Ratschläge zu großem Dank verpflichtet.

Litteratur.

v. Freudenreich, Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. 2. Aufl. Jena (G. Fischer).

Guillebeau, Beiträge zur Lehre über die Ursachen der fadenziehenden Milch. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. Bd. V. p. 135 u. ff.)

Admetz, L., Untersuchungen über Bacillus lactis viscosus, einen weitverbreiteten milchwirtschaftlichen Schädling. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. 1891. p. 185 u. ff.

Fleischmann, Lehrbuch der Milchwirtschaft. 3. Aufl. 1901. p. 101 u. ff.

Ward, Archibald R., Ropiness in milk and cream. (Bulletin of the Cornell University Agriculture Experiment Station. No. 165.)

Lafar, Technische Mykologie.Bd. I. p. 250 u. ff. Jena (G. Fischer).

Referate.

Pappenheim, Arthur, Neuere Arbeiten über die Struktur der Bakterien. [Vortrag, gehalten am 10. April 1901 in dem „naturwissenschaftlichen Verein in Hamburg".] (Verhandlungen des naturwissenschaftlichen Vereins in Hamburg. III. Folge. Bd. X. Hamburg (L. Friederichsen u. Comp.) 1902. p. XXVIII—XXIX.)

Eine kurze Wiedergabe des Vortrages. Folgende Hauptpunkte interessieren uns:

1) Die künstlichen Teerfarben (namentlich die basischen) färben Bakterien kräftiger und besser als die natürlichen Farbholz- und Karminfarbstoffe. Der Bakterienleib muß daher eine stark sauere Substanz enthalten. 2) Da die Tuberkelbacillen schwer färbbar, aber auch schwer entfärbbar sind, so muß die Leibessubstanz der Tuberkelstäbchen ein physikalisch sehr dichtes Gefüge haben, in der Fett bezw. Wachs eine wichtige Rolle spielt. Verf. lehnt die von der physikalischen Färbetheorie angenommene universelle Bedeutung des Fettes für die Säureechtheit ab. Es beruht die schwere Entfärbbarkeit der Bacillen auf Fett, aber säureecht sind alle echten Beizenfärbungen. 3) Die Kokken der Gonorrhöe und der Hirnhautentzündung, ferner die Influenzastäbchen besitzen schwach basophile Eigenschaften, da sie sich durch Jod nicht säuereecht machen lassen. 4) Die Babes-Ernstschen Polkörperchen werden mit Bütschli, Marx etc. für Anhäufungen chromatischen Keimplasmas gehalten. 5) Bei Färbung des Kopfes des menschlichen Spermas mit Nocht's Malariamethode fand Verf. zwei Substanzen: einen Innenkegel und eine Kappe, von denen nur der erstere jene rote Komponente aufnimmt.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Czapek, Untersuchungen über die Stickstoffgewinnung und Eiweißbildung der Pflanzen. (Hofmeister's Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. I. 1902. Heft 10—12. p. 538—560.)

Czapek's Arbeit ist die erste Studie einer groß angelegten Untersuchungsreihe und bringt hochinteressante Aufschlüsse über die konnte Eiweißsynthese im Pflanzenreich. Als wesentliches Ergebnis für Aspergillus niger nachgewiesen werden, daß er Eiweiß am besten von allen Stickstoffsubstanzen aus Aminosäuren aufbauen kann, andere Stickstoffsubstanzen kommen nur insoweit in Frage, als sie leicht in Aminosäuren übergeführt werden können. Besonders interessant ist noch die Beobachtung, daß Traubenzucker den Eiweißaufbau hervorragend begünstigt, Kohlehydrate also zur Hergabe des nötigen Kohlenstoffes besonders geeignet sind.

Martin Jacoby (Heidelberg).

Lindroth, F. J., Mykologische Mitteilungen. (Acta Societatis pro Fauna et Flora Fennica. T. XX. No. 9. 1901 Mit 1 Tafel.)

Im ersten Abschnitt: „Ueber einige Kompositen-bewohnende Puccinien" äußert sich Verf. über die Nomenklatur der folgenden Arten: Puccinia Prenanthis (Pers.) Fckl. — bisher allgemein als P. Chondrillae Corda bezeichnet — und P. Prenanthis purpureae (DC.) Lindr. — die bisherige P. Prenanthis, ferner P. Lactucarum Syd. und giebt eine Zusammenstellung ihrer geographischen Verbreitung. Im Anschluß an P. Prenanthis erörtert Verf. die Erscheinung der Rückbildung des Pseudoperidiums, wie sie bei gewissen Kompositen bewohnenden Aecidien vorkommt und gewissermaßen zu den peridienlosen Gymnoconien und Cäomen überleitet. Endlich weist hier Verf. nach, daß P. minussensis Thüm. von den beiden P. Prenanthis spezifisch zu trennen ist. Das Gleiche gilt für P. hemisphaerica (Peck.) Lindr. auf Mulgedium pulchellum.

Im 2. und 3. Abschnitt beschreibt Verf. zwei neue Pilze: Uromyces Mulgedii Lindr. (auf Mulgedium tataricum) und Aecidium lactucinum Lagerh. et Lindr. (auf Lactuca muralis, vom Aecidium der P. Prenanthis wohl unterschieden).

Im 4. Abschnitt macht Verf. einige Angaben über geographische Verbreitung und morphologische Eigentümlichkeiten der Pucc. Kamtschatkae Anders. (auf Rosa macrophylla), welche eine Mittelform zwischen Phragmidium (wegen ihrer oft 3-zelligen Teleutosporen), Uropyxis (wegen der zuweilen auftretenden zwei Keimsporen in einer Zelle) und Puccinia darstellt. Auch der Bau der — vom Verf. erst entdeckten — Spermogonien weist auf nahe Verwandtschaft mit Phragmidium arters hin.

Neger (München).

Hegyi, Dezsö, A czukorrépa betegségei hazánkban az 1901 évben. (Kisérletügyi közlemények. Bd. IV. Heft 5.) — Die Krankheiten der Zuckerrübe in Ungarn im Jahre 1901. (Mitteilungen der Versuchsstationen. p. 1—11.)

Verf. bereiste im Jahre 1901 jene Rübengegenden Ungarns, von welchen bedenklichere Erkrankungen der Zuckerrübe gemeldet wurden. Als nennenswerten Schaden verursachende Insekten werden

angegeben: Cleonus sulcirostris L. Ihm werden „riesige Schädigungen“ zugeschrieben, an welchen sowohl die Käfer als hauptsächlich die Larven teilhaben. Als Schutzmaßregel bewährte sich das Zusammenfangen der Käfer; jedoch wird die Fangmethode nicht angegeben. Außerdem wird Kalken des Bodens als Schutzmaßregel empfohlen.

Aphis Papaveris F. verursachte keine nennenswerten Schäden. Andere tierische Schädlinge wurden nicht beobachtet.

Von Krankheiten werden besprochen:

1) Der Wurzelbrand, welcher als die „gefährlichste und verbreiteteste“ Krankheit der Zuckerrübe bezeichnet wird. Als Ursachen werden angegeben: Pythium de Baryanum Hesse, Phoma Betae Fr. und Bakterien; am häufigsten tritt Phoma Betae Fr. auf. Die Infektion erfolgt nach dem Verf. durch den Boden und durch das Saatgut. Ebenso wird die Verbreitung des bakteriösen Wurzelbrandes dem „importierten Rübensamen“ zugeschrieben. Als Schutzmittel wird Verwendung von krankheitskeimfreiem Saatgut und Kalkdüngung empfohlen.

2) Die Trockenfäule verursacht wenig Schaden. Als Verbreiter des Phoma-Pilzes wird Bodeninfektion und das Saatgut angegeben.

3) Die Rübenschanzfäule verursachte noch keinen nennenswerten Schaden. Ein Versuch mit Kalkdüngung ergab vorzügliche Resultate. Als Hauptfaktor der Verbreitung der Krankheit wird der Rübensamen bezeichnet.

4) Die Fleckenkrankheit (Cercospora beticola Sacc.) und 5) die Blattbräune (Sporidesmium putrefaciens Fuck.) verursachten „im ganzen Lande großen Schaden“, welcher auf ca. 20 Proz. der ganzen Ernte geschätzt wird. Als Krankheitserreger werden der Boden und der Rübensamen bezeichnet.

Im Schlußkapitel wird nochmals hervorgehoben, daß der Rübensamen der Träger der meisten Rübenkrankheiten sei, zugleich werden die zu seiner Desinfektion geeigneten Beiz- und Schälverfahren besprochen. Das Hiltner'sche Verfahren wird als zu kompliziert verworfen und die Wirkung der Beizmittel im allgemeinen als gering und mit den Kosten nicht im Verhältnis stehend bezeichnet. Dagegen wird das Schälverfahren, „dessen Idee von Herrn Prof. Linhart stammt, während seine praktische Verwirklichung das Verdienst eines ungarischen Fabrikanten ist“, als sehr zweckentsprechend gelobt. Zuletzt wird ein Anbauversuch mit geschältem und gebeiztem Rübensamen mitgeteilt. 100 Knäuel nichtbehandelten Samens gaben 258 Keime, worunter 95 krank waren (?). Nach dem Schälen entwickelten sich 252 Keime, worunter 50 kranke, nach Anwendung eines kombinierten Schäl- und Beizverfahrens 258 Keime, mit nur 5 kranken Keimen.

France (Aderstedt).

Neger, F. W., Beiträge zur Biologie der Erysipheen. (Flora. Bd. LXXXVIII. 1901. p. 333. Mit Taf. XV u. XVI.)

Trotz der zahlreichen Arbeiten über die Mehltaupilze sind doch noch viele Vorgänge unbekannt geblieben, die mit dem Schick-

sal der Perithecien nach der Reife zusammenhängen. Da die Sporen erst nach einer Ruheperiode reifen und sich aus dem Perithecium entleeren, so wird es wahrscheinlich, daß die reifen Perithecien Verbreitungsmittel besitzen. Das ist denn auch wirklich der Fall, und von Beobachtungen in der Natur ausgehend, erörtert Verf. auf Grund zahlreicher Untersuchungen diese biologischen Verhältnisse der Perithecienverbreitung.

In der Einleitung wirft er noch eine Anzahl ebenso wichtiger Fragen auf. Man hat versucht, die Conidienformen der Erysipheen nach Gestalt und Größe der Sporen zu definieren. Da aber die Sporen außerordentlich variieren, so reichen diese Merkmale zur sicheren Unterscheidung nicht aus. Verf. schlägt nun vor, die Fibrosinkörper, die Zopf in den Zellen der Oidiensporen gefunden hat, näher ins Auge zu fassen. Es scheinen Sphaerotheca, Uncinula und Podosphaera allgemein Fibrosinkörper zu besitzen, Erysiphe und Microsphaera dagegen nicht.

Daß auch die Frage, unter welchen Bedingungen die Conidien- und die Perithecienbildung zustande kommt, noch nicht spruchreif ist, zeigt Verf. auf Grund eigener und von anderen angestellter Versuche.

Die Arbeit selbst beschäftigt sich ausschließlich mit den Verbreitungsmitteln der Perithecien. Man kann 2 große biologische Gruppen unterscheiden, die sich dadurch charakterisieren lassen, daß bei der einen die Perithecien am Substrat haften bleiben, bei der anderen dagegen frühzeitig abfallen. Zur ersteren Gruppe gehören Sphaerotheca und Erysiphe, ferner Uncinula circinata, zur letzteren dagegen die meisten Uncinula-Arten, Microsphaera, Podosphaera und Phyllactinia.

Das hauptsächlichste Mittel, um die Perithecien zur Ablösung zu bringen, ist die unregelmässige Schrumpfung ihrer Wandungszellen. Meist sind die Wandungszellen der Perithecienbasis dünner als die übrigen, so daß hier eine stärkere Einschrumpfung der Zellen bei Wasserverlust erfolgen hann.

Bei Sphaerotheca lösen sich die Perithecien nicht los. Es findet ganz gleichmäßige Schrumpfung aller Zellen der Wandung statt. Diese kann so stark werden, daß bei einigen Arten (z. B. S. phytopthophila) die zarten Radialwände reißen und so der Zusammenhang zwischen inneren und äußeren Tangentialwänden zerstört wird.

Bei der Gattung Erysiphe sind die Wandungszellen gleichmäßig dick oder die an der Basis dickwandiger. Eine Einwölbung am Grunde des Peritheciums und damit Loslösung kann also nicht stattfinden, ganz abgesehen davon, daß die Anhängsel im Mycelfilz eingewebt sind. Werden durch Tropfen Stücke des Mycels mit Perithecien von den Blättern losgerissen, so haftet das abgespülte Stück nach dem Trocknen fest an der Unterlage. Dies erklärt sich dadurch, daß Mycel und Anhängsel der Erysipheen bei Befeuchtung etwas verschleimen.

Als Gattung Trichocladia faßt Verf. die beiden Arten Erysiphe Astragali und tortilis zusammen und stellt die-

selbe zwischen Erysiphe und Microsphaera. Auf die Gründe, die den Verf. veranlaßten, die de Bary'sche Sektion Trichocladia zur Gattung zu erheben, kann hier nicht eingegangen werden.

Bei Trichocladia Astragali erfolgt eine Loslösung der Perithecien. Die Wandungszellen der Basis sind zartwandiger und beim Eintrocknen findet also eine Einwölbung der Wand an der Perithecienbasis statt. Nun fallen aber die so vom Substrat abgehobenen Fruchtkörper nicht einzeln ab, sondern stets in größerer Zahl. Dies wird durch folgende Einrichtungen erreicht: Die langen, seidenglänzenden Anhängsel nämlich wachsen alle in einer Richtung parallel mit einander. Sucht man also ein Perithecium zu entfernen, so werden gleichzeitig mehrere mitgerissen. Außerdem aber sind die parallelen Anhängsel zu seilartigen Konglomeraten durch einen Sekundärpilz verflochten. Als solcher hat sich Monilia candida, die überhaupt die Erysipheen häufig begleitet, kerausgestellt, einmal wurde auch Cephalothecium roseum, dem gleichen Zwecke dienend, gefunden. — Dasselbe gilt auch für Trichocladia tortilis und mit geringer Modifikation auch für Microsphaera. Auch Podosphaera zeigt Loslösung.

Ebenso wie bei diesen Gattungen, so sind auch bei Uncinula die Perithecien auf Windverbreitung angepaßt. Verf. unterscheidet 2 Gruppen. Die einen besitzen Perithecien vom Typus der Gattung Microsphaera (Microsphaerioidea), die anderen dagegen solche vom Typus der Gattung Phyllactinia (Euuncinula). Die Perthecien der ersten Gruppe lösen sich leicht und fliegen mit Mycelfetzen davon. Bei denen der zweiten Gruppe (U. Aceris, polychaeta) wird ebenfalls die Basis der Perithecien eingewölbt und die Lösung erfolgt meist für ein einzelnes Perithecium. Die Anhängsel bei diesen Arten dienen zur Festheftung der fliegenden Fruchtkörper. Dieselben sondern nämlich im Moment der Befeuchtung eine schleimige Masse ab.

Abweichend verhält sich U. circinata. Hier sind die Zellen der Oberseite der Perithecien zarter als die der Basis; die Einwölbung erfolgt am Scheitel und Loslösung vom Substrat findet nicht statt.

Phyllactinia verhält sich in vieler Beziehung eigentümlich. Die von Tulasne gezeichnete „zellige Haut" ist bisher von den Beobachtern nicht wieder gefunden worden, Neger hat wahrscheinlich das Tulasne'sche Objekt wiedergefunden. Wenn man nämlich bei auffallendem Licht den „Tropfen" eines frischen Phyllactinia-Fruchtkörpers betrachtet, so scheint es, als ob an der Oberfläche desselben eine aus polygonalen Zellen gebildete Haut schwämme. Wenn sich der Tropfen mit dem umgebenden Wasser mischt, verschwindet die Haut. Verf. hält diese Haut nun für eine schaumige, zellähnliche Masse, die vielleicht dazu dient, Wasser aus der Luft aufzusaugen.

Besonderes Interesse bietet die Funktion der stelzenartigen, an der Basis blasig aufgeschwollenen Anhängsel. Diese entstehen

als Auswüchse je einer Wandungszelle. Die angeschwollene Basis ist nun nicht gleichmäßig verdickt, sondern der Quadrant, der unterseits am nächsten der Wandung des Peritheciums liegt, erscheint zartwandiger. Die Anhängsel besitzen also unten gleichsam ein Scharnier. Bei gesteigertem Turgor bleibt der dünnwandige Teil prall und die Anhängsel strecken sich daher wagerecht, bei vermindertem Turgor fällt er zusammen und die Anhängsel bewegen sich nach unten, indem sie dadurch das Perithecium emporheben, das jetzt wie auf Stelzen zu stehen scheint.

Dafür, daß die Perithecien durch die Bewegung der Anhängsel emporgehoben werden, findet auch keine Einwölbung bei der Eintrocknung statt.

Am Schluß der an Beobachtungen reichen Arbeit geht Verf. kurz auf die Phylogenese der Gattungen ein. Lindau (Berlin).

Poppe, S. A., Ueber die Mäuseplage im Gebiet zwischen Ems und Elbe und ihre Verhinderung. Auf Grund der Ergebnisse der vom Verein für Naturkunde an der Unterweser im Jahre 1899 angestellten Mäuse-enquête. (Separate Abhandl. des Vereins f. Naturk. a. d. Unterweser. I. VIII. 67 pp. Bremerhaven 1902.)

Beobachtungen über die Verbreitung der einzelnen Kleinnager, welche den sonst darüber herrschenden Vorstellungen nicht entsprachen sowie Rücksichtnahme auf die ökonomische Bedeutung der Sache veranlaßten Poppe, dem Verein für Naturkunde an der Unterweser eine im Jahre 1899 abzuhaltende Umfrage vorzuschlagen, welche sich auf das nordwestdeutsche Flachland, zumal auf die Marschen der unteren Ems, Weser und Elbe erstreckte. Der ausgesandte Fragebogen sollte hauptsächlich ermitteln, ob die etwa auftretende Mäuseplage von der gemeinen Feldmaus (Microtus arvalis) oder von anderen Muriden veranlaßt wurde, auf welcher Bodenart der Schaden auftrat, ob nur eine stärkere Vermehrung der bereits vorhandenen Mäuse ihn hervorrief oder Einwanderung aus anderen Gebieten zu beobachten war, ob hierbei Gräben, Kanäle und Flüsse von den Mäusen durchschwommen wurden, ferner ob während der Plage eine Vermehrung der natürlichen Feinde eintrat, welche Bekämpfung angewendet wurde u. a. m. Aus den eingelaufenen Antworten und Belegstücken entnahm P. folgende Ergebnisse, die er durch eingehende litterarische Studien (Verzeichnis der benutzten Schriften von 448 No.) über vorher und außerhalb des beregten Gebietes gemachte Beobachtungen ergänzt. Es hat sich z. B. herausgestellt, daß Mus agrarius im nordwestlichen Deutschland viel mehr verbreitet ist, als dies P. in seiner 1881 erschienenen Säugetierfauna dieses Landstriches annahm; sie ist im Lande Wursten den Bohnenfeldern sehr schädlich, so daß ihren Bauen ganze Säcke der eingetragenen Hülsenfrüchte entnommen werden können. Auch die Zwergmaus (Mus minutus) ist häufig und merkbar schädlich, auch breitet sie ihr Wohngebiet weiter aus. Dagegen fällt der auf Waldmäuse (M. sylvaticus) zurückgehende Schaden kaum ins Gewicht. Von

den Arvicoliden fehlt Microtus agrestis ganz, was durch Gewölluntersuchungen bestätigt wurde, und die Waldwühlmaus (Evotomys glareolus) ist selten. Dagegen wird die Mollmaus (Wasserratte, Arvicola amphibius) stellenweise zur Landplage, was schon aus älteren Urkunden hervorgeht. Als die gefährlichste Art muß jedoch die Feldmaus (Arv. arvalis) betrachtet werden, und sie allein scheint im Gebiete die Plagen zu verursachen. Zur Beleuchtung ihrer die Brandmaus weit übertreffenden Thätigkeit diene die Angabe, daß bei Otterndorf auf einem 15 a haltenden Bohnenacker nach dem Abernten ca. 150 Pfd. Bohnen aus den Mäusebauen entnommen werden konnten. Wanderungen erfolgen zwar nur bei verringerter Nahrung in die Nachbarschaft, doch bilden die Wasserläufe dabei kein Hindernis, wie denn nicht selten sogar die Weser durchschwommen wird. Regelmäßige Züge finden nach den Jahreszeiten statt und zwar wird im Herbst die Marsch von den Mäusen mit der höher gelegenen Geest zum Ueberwintern vertauscht, im Frühjahr das Umgekehrte befolgt.

Hinsichtlich des Entstehens von Plagen konnte P. feststellen, daß seit dem Jahre 1866 sowohl in den oldenburgischen Wesermarschen als auch im bremischen Gebiet sowie in den Kreisen Blumenthal, Geestemünde, Lehe und Hadeln alle 3 Jahre eine ungewöhnliche Vermehrung der Mäuse stattgefunden hat, die sich in gewissen Jahren zur Kalamität steigerte. Aus dem nördlichen Ostfriesland dagegen schwanken die Angaben über Mäusejahre sehr und eigentliche Plagen scheinen selten zu sein. Als ein Beispiel für die Bedeutung des Mäuseschadens außerhalb des landwirtschaftlichen Betriebes möge folgende Angabe dienen. 1872 war die Kappe des Weserdeichs auf Bremerhavener Gebiet siebartig durchlöchert, so daß man für die Sicherheit des Deiches fürchtete und seitens der Wasserbaubehörde längere Zeit durch Arbeiter die vorhandenen Mäuse mittelst Eingießen von dünnflüssigem Schlamm vertrieben oder getötet werden mußten. Allein an den vor diesem Schlammeinguß flüchtenden Tieren wurden dort täglich Hunderte vernichtet. — Ein weiterer, ausführlicher Abschnitt der Poppe'schen Schrift ist den Vertilgungsmitteln gewidmet. Unter ausgedehnter Verwertung der Litteratur werden die natürlichen Feinde der Mäuse aufgeführt und nach ihrer Wirksamkeit gewürdigt, dann folgt die Besprechung der mechanischen Mittel und Gifte, wobei dem jüngsten Verfahren der Seuchenerregung durch den Loeffler'schen Bacillus größte Bedeutung zugemessen wird. Ein letztes Kapitel handelt von der Verhinderung der Mäuseplagen. Sie muß nach dem Verf. in einer unablässigen Ueberwachung der Frage durch die Verwaltungsbehörde gipfeln, welche weiterhin durch Kommissionen der betroffenen Gemeinden das nötige Vorgehen herbeiführen sollen. Er glaubt, daß planmäßige und rechtzeitige Abwehr eine allmähliche Einschränkung und Zurückdrängung der Mäuseplage erzielen wird, wie dies bei gewissen Insektenschädlingen (Baumweißling) schon gelungen ist.

Jacobi (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von
San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Arbeiten auf dem Gebiete der pathologischen Anatomie und Bakteriologie aus dem pathologisch-anatomischen Institut zu Tübingen. Hrsg. von P. v. Baumgarten. IV. Bd. 1. Heft. II, 112 S. m. 5 Steindr.-Taf. gr. 8°. Leipzig (S. Hirzel) 1902. 5 M.

Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Nebst mikrophotograph. Atlas, zusammengestellt v. E. Zettnow, hrsg. v. W. Kolle u. A. Wassermann. Mit e. Atlas photograph. Taf. nach Orig.-Aufnahmen. Text. 2. Lfg. p. 177—352. gr. 8°. Jena (Gustav Fischer) 1902. 4 M.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Coe, W. R., The genus Carcinonemertes. (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 672 p. 409—414.)

Coutière, H., Sur un nouveau type de Rhizocéphale grégaire parasite des Alpheidae (3. note). (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 21. p. 724—725.)

Fermi, C. e **Cano-Brusco, U.**, Studio sulle relazioni che esistono fra la proprietà morfologiche e biologiche dei microorganismi. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1902. No. 12/13. p. 454—465, 491—502.)

Geisenheyner, L., Ueber einige neue und seltenere Zoocecidien aus dem Nahegebiete. (Allg. Ztschr. f. Entomol. 1902. No. 10/11. p. 193—198.)

Gibbs, Th., Coprophilous fungi collected near Sheffield. (Naturalist. London 1902. p. 132.)

Hefferan, M., An unusual bacterial grouping. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 375.)

Looss, A., Zur Kenntnis der Trematodenfauna des Triester Hafens. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXI. 1902. No. 13. p. 637—644.)

Maill, L. C., Injurious and useful insects, an introduction to study of economic entomology. gr. 8°. 264 p. London (Bell) 1902. 3 sh 6 d.

Rabenhorst's, L., Kryptogamenflora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz. 2. Aufl. Bd. I. VII. Abt. Pilze. 83. Lfg. Fungi imperfecti. Bearb. v. Andr. Allescher. p. 513—576 m. Abbildungen. gr. 8°. Leipzig (Eduard Kummer) 1902. 2,40 M.

Schaudinn, F., Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. Bacillus bütschlii n. sp. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902. Heft 2. p. 306—343.)

Ward, H. M., On pure cultures of a uredine, Puccinia dispersa Eriks. (Proceed. of the R. soc. of London. Vol. LXIX. p. 451—466.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Milch, Molkerei.

Epstein, St., Untersuchungen über die Reifung von Weichkäsen. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIII. 1902. Heft 1. p. 1—20.)

Fliegel, Jos., Die Wirkungsweise der Milch-Pasteurisier-Apparate und deren Wärmeregulatoren. Versuchsergebnisse. III, 75 p. m. 16 Holzschn. Lex-8°. In Komm. Leipzig (M. Heinsius Nachf.) 1902. 2 M.

Kloepfer, Die Schwankungen im Fettgehalt der Milch und die Milchkontrolle. 39 p. gr. 8°. Leipzig (Heinsius Nachf.) 1902. 0,80 M.

Kröhnke, O., Beitrag zur Frage über die Reinigung von Milch. Gegen Prof. Dr. W. Dunbar, Direktor des staatl. hygien. Institutes in Hamburg und Apotheker Dr. Richard Weil, Assistent am Institut. 30 p. m. Abbildungen. gr. 8°. Hamburg (Alfred Janssen) 1902. 0,40 M.

Russell, H. L. and **Hastings, E. G.**, Conditions affecting the thermal death-point of bacteria in milk. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 361—362.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Buhlert, H., Untersuchungen über die Arteinheit der Knöllchenbakterien der Leguminosen und über die landwirtschaftliche Bedeutung dieser Frage. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1902. Heft 11, 12. p. 385—391, 417—427.)
Burri, R., Die Stickstoffernährung der Leguminosen und die Knöllchenbakterien. (Schweizer. landwirtschaftl. Centralbl. 1901. Heft 4, 6. p. 97—112, 139—150.)
Klebahn, Die Mykorrhiza. (Verhandl. d. naturw. Ver. Hamburg. Bd. IX. 1902. p. XIV—XVI.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Denkschrift, 23., betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1900. (Bearbeitet im Kaiserlichen Gesundheitsamte. 152 p. m. 3 Taf. Fol. Berlin 1902.)
Eckstein, K., Das Auftreten forstlich schädlicher Tiere in den Kgl. preußischen Staatsforsten im Jahre 1900. (Forstl. Beil. z. Amtsbl. d. Landwirtschaftskammer f. d. Reg.-Bez. Wiesbaden. 1902. No. 7. p. 27—29.)
Fuller, Cl., Forage blight or oat rust. Puccinia coronata. (1. rep. of the Departm. of agricult. of Natal. 1902. p. 12—19.)
Hillmann, P., Die Bekämpfung des Hederichs durch Bespritzung mit Salzlösungen. (Mitt. d. dtsch. Landwirtschafts-Gesellsch. 1902. No. 6. p. 24.)
Noel, P., Encore une nouvelle maladie du chêne en Normandie. Le chêne Pouillard. (Naturaliste. 1902. No. 366. p. 129—130.)
Orton, W. A., The Wilt disease of the cowpea and its control. (U. S. Departm. of agricult. Bur. of plant industry Bullet. 1902. No. 17. p. 9—20.)
Sajó, K., Die Apfelmotte. (Prometheus. 1902. No. 661, 662. p. 577—580, 593—596.)
Stift, A., Ueber einige aufgetretene Pflanzenschädiger. (Wien. landwirtschaftl. Ztg. 1902. No. 44. p. 380.)
Townsend, C. O., Observations on the bacterial rot of the Calla Lily. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 405—406.)
Weed, C. M. and **Conradi, A. F.**, The Squash bug. (New Hampshire College Agricult. experim. stat. Durham Bullet. 89. Febr. 1902. p. 15—28.)
Zirngiebl, H., Spargelschädlinge. (Natur und Glaube. 1902. p. 126—128.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 20. September 1902. **No. 10.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Ueber Gärungen.

Von Privatdocent Dr. **Hugo Fischer**, Bonn.

Nicht neue Thatsachen oder neue Gedanken zur Gärungsfrage beizubringen, ist die Absicht der folgenden Zeilen — zumal wir in der Deutung der Erscheinungen recht weit werden zurückgreifen müssen. Was uns fehlt oder doch nicht immer genügende Würdigung findet, das ist die übersichtliche, nach klaren und wesentlichen Gesichtspunkten geregelte Anschauungsweise, die systema-

tische Klassifikation der sehr verschiedenartigen Vorgänge, die man als Gärungen zu bezeichnen pflegt, und der ihnen verwandten Erscheinungen.

Hierin hat die jüngste große Entdeckung, die von E. Buchner's „zellenfreier Gärung", eigentümlicherweise mehr Verwirrung als Klarheit geschaffen, woran die Entdeckung selbstredend unschuldig ist. Man hat einen tiefgreifenden Unterschied zwischen den eigentlich vitalen und den durch ein Enzym hervorgerufenen Umsetzungen statuiert und stellt beide als grundverschiedene Kategorieen einander gegenüber; allein mit Unrecht.

Denn erstens ist auch das Enzym etwas Lebendes; es kann getötet werden, wenn es auch gegen manche Agentien widerstandsfähiger ist als das Protoplasma. — Auf den großen Streit: hie Zymase, hie Protoplasma-Trümmer, gehe ich hier nicht ein; ich würde es auch ohne Buchner für wahrscheinlicher halten, daß die Gärthätigkeit nur von einem charakterisierten Teile der aktiven Zellsubstanz, als daß sie „vom Protoplasma" ausgeübt wird[1]).

Zweitens können wir den Unterschied nicht durchführen, weil wir noch lange nicht alle Enzyme kennen und dazu vielleicht auch niemals gelangen werden; wir können in keinem Einzelfalle, wenn auch die Abtrennung eines Enzyms in keiner Weise gelingen will, den exakten Beweis dafür erbringen, daß wirklich keinerlei Enzym bei dem zu untersuchenden Vorgange in Frage kommt. Das Vorhandensein und Wirken eines Enzyms kann im Einzelfalle bewiesen werden, das Nichtvorhandensein ist überhaupt nicht zu beweisen. Der Fall ist doch sehr wohl denkbar, daß ein bestimmtes, in seiner eigenen Weise thätiges Enzym sofort zerstört wird, oder doch die Fähigkeit zu funktionieren einbüßt, wenn es von der Zelle getrennt wird. Als Beispiel weise ich auf die Chloroplasten hin, denen wir unbedenklich enzymatische Natur zuschreiben würden, wenn sie von ganz flüssiger und nicht bloß von halbflüssiger, kolloidaler Beschaffenheit, wenn sie nicht geformt wären; diese sind nach aller Wahrscheinlichkeit (vgl. Kny's Untersuchungen hierüber) zur Assimilation unfähig, wenn sie nicht von Protoplasma umschlossen sind. Wäre nun die assimilierende Substanz in molekularer Verteilung im Protoplasma verbreitet, so wäre uns jede Möglichkeit genommen, sie als etwas von diesem Verschiedenes zu erkennen, und wir würden den Assimilationsvorgang der direkten Thätigkeit des Protoplasmas zuschreiben. Die Assimilation ist aber zweifellos ein vitaler Prozeß, obwohl sie durch ein vom Protoplasma verschiedenes Agens bewirkt wird.

Drittens ist der statuierte Unterschied unwesentlich, weil die ganze Frage physiologischer Natur ist und es für den Physiologen in erster Linie darauf ankommt, welche Bedeutung ein Vorgang für das Leben derjenigen Zelle hat, in der er sich abspielt, und es gegenüber dieser Hauptfrage viel gleichgiltiger ist, ob er

1) Vergl. O. Loew in Journal f. prakt. Chemie. Bd. XXXIII. 1886. p. 351.

durch das Protoplasma selbst oder durch ein von eben diesem Protoplasma ausgeschiedenes Enzym hervorgerufen wird. Ein Beispiel möge das erläutern: Denken wir uns in das Verdauungssystem eines Tieres ein Quantum von Nahrung aufgenommen, die teilweise direkt resorbiert werden kann, teilweise erst durch Enzymwirkung dazu vorbereitet werden muß; das ist gewiß ein interessanter und sehr beachtenswerter Unterschied, der uns aber darum doch nicht berechtigen würde, die beiden Vorgänge in zwei grundverschiedene Kategorieen einzustellen. — Auch ist es ja noch gar nicht ausgeschlossen, daß auch die normale Atmung der Tiere und Pflanzen durch eine enzymartige Substanz hervorgerufen wird; die mancherlei „Oxydasen“, die man aus beiden Naturreichen kennt, könnten sehr wohl, wenigstens teilweise, dabei mitwirken.

Die Trennung in vitale und enzymatische Vorgänge reißt Zusammengehöriges auseinander und stellt Fremdartiges zusammen; so die alkoholische Gärung, die einen Gewinn von vitaler Energie bedeutet, mit der nur dem Stofftransport dienenden Auflösung der Reservestoffe in keimenden Samen. Gewiß werden beide durch Enzyme bewirkt, aber grundverschiedenen Wesens sind sie doch.

Der kritisierten „biologischen“ Betrachtungsweise hat C. Oppenheimer[1]) seine „energetische“ Anschauung gegenübergestellt, die von rein chemischem Gesichtspunkte aus diejenigen Erscheinungen in eine Klasse zusammenfaßt, die als endothermal zu bezeichnen sind; die zu weit gehende Betonung dieses Standpunktes führt aber auch wieder zu Einseitigkeiten und Unrichtigkeiten. Für O. ist jede Spaltung exothermal, jeder Aufbau endothermal; ich brauche hiergegen nur anzuführen, daß es doch auch Spaltungen giebt, die Energie erfordern, und daß sich manche Synthesen von selbst, ohne Energiezufuhr, zum Teil unter lebhafter Wärmeentwickelung vollziehen. Und wenn wirklich bei allen den Auflösungsvorgängen, wie sie bei der Verdauung im tierischen Körper, bei der Keimung von Pflanzensamen und Knollen sich vollziehen, Energie frei werden sollte, so erscheint es doch sehr bedenklich, diese mit der Lebensenergie gleichzusetzen, wie sie bei Stoffumsetzungen ganz anderer Art gewonnen wird, ganz abgesehen von der sehr unbedeutenden, für die Erhaltung des Lebens schwerlich ausreichenden Quantität derselben.

Darum halte ich nicht die „biologische“, auch nicht die „energetische“, sondern nur eine vielleicht als „bioënergetische“ zu bezeichnende Anschauungsweise für geeignet, die verschiedenen, mit Recht oder Unrecht als „Gärung“ bezeichneten Erscheinungen in ein klares und dem natürlichen Zusammenhang entsprechendes System zu bringen.

Daß man ganz heterogene Dinge noch heute in der Kategorie der Gärungen zusammenfaßt, unterliegt keinem Zweifel[2]); die für

---

1) Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1900.

2) Fr. Weis z. B. (Schmidt u. Weis, Die Bakterien. Jena 1902) definiert die Gärungen als „Zersetzungsvorgänge, die durch Enzyme bewirkt werden“. Dahin gehört aber eine sehr große Zahl von Dingen, die mit echten Gärungen schlechterdings gar nichts zu thun haben, wie die Diastasewirkung in den

wissenschaftliche Definitionen nun einmal unerläßliche Logik wird es aber notwendig machen, aus dieser Kategorie alles das hinauszuweisen, was nicht hineingehört. Als das Prototyp der Gärung wird, meine ich, immer die alkoholische Gärung anzusehen sein, für diese aber sind folgende 4 Punkte von maßgebender Bedeutung:

1) sie geht stets innerhalb der Zelle vor sich, von der sie ausgeht — wenn nicht künstliche Einwirkung das natürliche Verhalten beeinflußt;

2) sie liefert Produkte, die von dem Ausgangsmaterial ihrer Konstitution nach wesentlich verschieden, auch nicht implicite darin enthalten sind;

3) die Endprodukte sind für das Leben des Organismus unnütz bezw. schädlich;

4) sie erzeugt vitale Energie.

Diese 4 Thatsachen werden wir festhalten müssen, um den Begriff der Gärung logisch festzulegen. Stellen wir diesen Thatsachen beispielsweise die der „Cellulosegärung“ [1]) gegenüber:

1) die Hydrolyse der Cellulose kann nur außerhalb der Zellen, durch ein austretendes Enzym, bewirkt werden;

2) dieselbe liefert zunächst einfachen Zucker, der in der Cellulose implicite enthalten war;

3) der Zucker dient der Zelle zu unentbehrlicher weiterer Verwendung;

4) daß die Spaltung der Cellulose direkt einen Energiegewinn bedeute, ist äußerst unwahrscheinlich; — solcher erwächst aber den Zellen durch die Vergärung des Zuckers zu Buttersäure, Essigsäure, Kohlensäure und Methan oder Wasserstoff, die ihrerseits teils unbrauchbar, teils im Uebermaß schädlich sind.

Schon aus letzterem Absatze geht hervor, daß die „Cellulosegärung“ aus zwei ganz verschiedenen Vorgängen besteht; der zweite ist eine echte, der alkoholischen analoge Gärung, der erste in allen wesentlichen Punkten das Gegenteil derselben und hat mit ihr nur das eine Merkmal, die Bewirkung durch ein Enzym, gemeinsam; woraus denn auch erhellt, daß die Wirkung von Enzymen durchaus verschiedenartiger Natur sein kann und als Einteilungsprinzip keineswegs geeignet ist.

Pflanzen, die lokale Durchbrechung von Zellmembranen durch parasitische Pilze, jegliche Art von Verdauung und vieles andere.

1) Vergl. W. Omelianski, Ueber die Gärung der Cellulose (aus dem Laboratorium von Winogradsky) in Centralbl. f. Bakteriol. II Abt. Bd. VIII. 1902. Heft 7—13.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber Hefen und über den Zellkern bei Saccharomyceten und Bakterien.

Von **Marpmann** in Leipzig.

Ob jede Hefe und unter jeden Verhältnissen einen Zellkern besitzt, ist eine offene Frage, die sich nach den vorhandenen Untersuchungen wenn auch nicht bestimmt, so doch annähernd dahin entscheiden läßt, daß das Vorhandensein eines Zellkernes bei allen Hefen sehr wahrscheinlich ist. Nach Wager (Annals of Botany. 1898. p. 499) soll Kern und Vakuole einen zusammengehörenden Teil der Hefe darstellen und als Nucleus anzusehen sein, während der Kern selbst nur als Nucleolus zu betrachten wäre. Diese Ansicht stützt Wager auf das Auftreten von Gerüstfäden in den Vakuolen nach Sublimatfixierung. Bis zu dieser Entdeckung hat die Hefenforschung ungefähr 50 Jahre gebraucht seit dem Zeitpunkt, wo 1844 Naegeli zuerst das Dasein eines Hefenkernes beschrieben hatte (Zeitschrift f. wissensch. Botanik. Bd. I. 1844. p. 45.) Diese Ansicht wurde dann von Schleiden in seinem 1849 erschienenen „Grundzüge der wissensch. Botanik. p. 207" als wissenschaftlicher Lehrsatz festgelegt. Schmitz hat im Sitzungsberichte der niederrhein. Gesellschaft f. Natur- und Heilkunde. Bonn 1879. p. 18 diese Zellkerne durch Färbungsmethoden nachgewiesen. Strasburger und Zalewski bestätigen diese Beobachtungen, der Eine in seinem Botan. Practicum 1884. p. 351 und der Andere in dem Bot. Centralbl. Bd. XXV. 1. Auch Hansen beschreibt in Compt. rend. d. trav. du labor. de Carlsberg. 1886. p. 126 das Vorkommen von Zellkernen bei älteren Entwickelungsstufen, sowie bei den Sporen.

Im Gegensatz hierzu stehen Versuche von vielen Forschern, die entweder ebensolche negative Resultate erzielten oder die den Kern für gleichwertig halten mit den Granulis der Hefenzelle.

Wenn man der Frage näher treten will, so ist zuerst auf eine entsprechende Fixation der geeigneten Hefen zu achten. Das gewöhnliche Abtrocknen der Flammbioren zeigt eine starke Schrumpfung der Zelle und Vakuole, ebenso wie die Behandlung mit Formalin, Alkohol, Osmiumsäure, Sublimat und Jodjodkalium. Dagegen bewirken die Lösungen von Pikrinsäure, von Merkel's oder von Ruth's Solution eine Quellung der Hefezelle und eine Verkleinerung der Vakuolen. Am geeignetsten ist die Rolli'sche Lösung, in welcher die abgewaschene Hefe in Substanz ca. 24 Stunden liegen bleibt, dann ausgewaschen und gefärbt wird.

Der Kern wird durch Hämatoxylinfarben, durch Fuchsin und Gentianaviolett gut gefärbt, während die Granula besser die Methylenblau- und Jodgrünfarben aufnehmen.

Gute Färbungen giebt Heidenhain's Eisenlack-Hämatoxylin (M. Heidenhain, Ueber Kern und Protoplasma. Leipzig 1892.)

Nachdem der fixierte Hefenbrei ausgewaschen und auf Deck-

gläschen abgetrocknet ist, läßt man diese auf einer Beize von 2,5 Proz. Eisenalaunlösung 12—24 Stunden schwimmen und bringt nach dem Abspülen mit wenig Wasser sofort in die Hämatoxylinlösung. Nach 24 Stunden erscheinen die Präparate tief schwarz und werden durch Abspülen mit $^1/_4$-proz. Eisenalaunlösung differenziert, dann mit Grün oder Blau übergefärbt. In diesen Präparaten erscheinen die Kerne schwarz oder schwarzblau und das Plasma mit den Granulis in der entsprechenden Kontrastfarbe. Bei gelungenen Präparaten von sich teilenden Sprossungsstadien sieht man sehr oft den Zellkern in der Mitte der Sprossung liegen und bei anderen Zellen in zwei mehr oder weniger getrennten oder noch zusammenhängenden Teilen erscheinen, so daß der Eindruck einer echten Karyokinose entsteht. Ein Fadengerüst konnte in diesen Teilungsvorgängen nicht beobachtet werden.

Ebenso leicht als in den Hefen läßt sich auch der Kern bei größeren Bakterien erkennen. Unter den Infusionsbakterien finden sich Formen von doppelter Größe, Breite und Länge, von Subtilis oder auch Milzbrandbacillen, welche mit den Miller'schen sputigenen Formen Aehnlichkeit besitzen. Diese großen Bacillen eignen sich ganz besonders für die Kernfärbung. Sodann tritt uns in den Präparaten die Erscheinung der Schleimbildung sehr deutlich entgegen; schon an anderer Stelle habe ich darauf hingewiesen, daß alle Bakterien einen Schleim absondern, welcher als Hülle, nicht als Kapsel vor die Stäbchen oder Kokken gelagert ist. Diesen Schleim findet man auch bei den verschiedensten Hefen, bei einer mehr, bei der anderen weniger, je nach Art der Entwickelung, Ernährung, Substrat. In den gebeizten Präparaten sind die Schleimhüllen gut zu erkennen, wenn man mit Thioninblau nachfärbt. Auch durch Marineblau oder Eosin sind sehr oft die Schleimhüllen zu tingieren. Man kann dabei den kleinen Tric benutzen, die Aufschwemmung der Pilze mit einem gleichen Volumen sehr verdünnter Eiweißlösung zu verreiben, dann auszustreichen und die bestrichenen Deckglaspräparate in Alkohol mit 10-proz. Formalinzusatz zu fixieren. Diese fixierten Deckgläschen werden 2 Minuten in reine Karbolsäure — Acid. carbolic. liquefactum — gelegt, und dann sofort mit Wasser gespült, gebeizt, gefärbt, differenziert und nachgefärbt. Das Vorbehandeln mit Karbolsäure macht die vorhandenen Kerne noch empfindlicher für die Annahme von basischen Farbstoffen, so daß auch die Spore eine gute Färbung erkennen lassen. Daher wird diese Methode in meinem Laboratorium seit einiger Zeit für Sporenfärbung bei Bakterien benutzt.

Bei der großen Verbreitung von Hefenkeimen in der Luft kommt man bei jeder Luftuntersuchung sowohl als auch bei jeder Aussaat von Material, welches mit Luft in Verbindung gestanden hat, in die Lage, Hefe in Kultur zu erhalten. Die Hefe ist ein exquisiter Luftpilz, und daher kommt es auch, daß jede gärungsfähige Flüssigkeit bald in Gärung übergeht, wenn die Luft freien Zutritt hat. Es kommt aber auch aus diesem Grunde vor, daß so sehr viele Hefenarten, Rassen, Varietäten und wie diese Formen

alle genannt werden, täglich gezüchtet und täglich neu beschrieben werden. Auf die Speciesbeschreibung kommt es bei der Aufstellung solcher Arten selbstverständlich sehr an, es kann eine solche Diagnose niemals genau und exakt genug gegeben werden, und es war sehr naheliegend, daß man durch die hier beschriebene Kernfärbung ein weiteres gutes Merkmal haben würde, um die eine Art von der anderen, noch besser als es seither möglich ist, unterscheiden zu können. Leider ist nun mit der Kernfärbung als Diagnostikum nicht viel anzufangen. Es bleibt hier immer noch bei den alten Merkmalen bestehen, welche auf der äußeren Beschaffenheit der Zelle, Form und Gestalt der Hefenzelle, dann auf der Farbe und Entwickelung der Kultur, auf der Art der Sporenbildung und endlich der Art der Gärfähigkeit beruhen.

Nach der Form unterscheiden wir:

runde, ovale und lange Hefen.

Nach der Farbe der Kultur:

weiße, graue, gelbe, rote, braune und schwarze Hefen.

Nach der physiologisch-chemischen Thätigkeit:

invertierende und nicht invertierende, Pentosen- und Hexosenhefen.

Diese Wirkungen der Hefenzellen hängen ab von der Lebensthätigkeit und von der Art der gebildeten Fermente, von den Zucker invertierenden und Zucker vergärenden Körpern, die man aus den Hefenzellen extrahieren und konservieren kann. Ein solches Hefenferment hat eine beschränkte Wirkung, wie das Pepsin des Magensaftes, es reicht jedoch aus, um kleine Gärungsversuche mit einem solchen Trockenpräparat „Extractum fermentativum oder Extractum faecis“ anzustellen, wie es z. B. bei der Zuckerbestimmung verlangt wird.

Die fertile Hefe hat eine unbegrenzte Wirkung, die anhält, so lange noch gärungsfähiger Zucker vorhanden ist. Hierin besteht der Unterschied zwischen Hefenextrakt und lebender Hefe. Es hat jedoch die Fabrikation und der Handel mit solcher Hefe so entschiedene Umständlichkeiten, daß die Herstellung eines guten Hefenextraktes gewiß mit Freuden begrüßt werden würde. Selbst wenn es für die Brotindustrie nicht rentabel sein sollte, mit dem Extrakt zu arbeiten, so dürfte es in den Haushaltungen leicht Eingang finden und die künstlichen Gärmittel aus Natrium bicarbonat. und Weinsäure etc. leicht verdrängen, weil das Backwerk durch die Kunsthefe nicht nur sehr leicht einen unangenehmen Geschmack, sondern auch eine schlechte Farbe erhält. Die gute Hefe erteilt dem Gebäck einen lieblichen, angenehmen Geschmack. Die Herstellung solcher Extrakte geschieht nach den Regeln, nach denen man die Organopräparate bereitet, entweder „Austrocknen der ganzen Masse bei niederer Temperatur und Pulverisieren, oder Auspressen des Saftes, Trocknen bei 30—40° C auf Glasplatten, Pulverisieren und Verreiben mit Milchzucker, dieses Pulver giebt den vergorenen Getränken den spezifischen Geschmack, wie die vitale Hefenzelle.

Seit Jahren sind von mir sehr viele Hefenarten in meinem

Institut gezüchtet und bei den vorliegenden Kernfärbungsversuchen benutzt worden. Diese sämtlichen Hefen ergaben positive Kernfärbungen und konnten auch besonders bei der Sporenbildung solche Färbungen erzielt werden. Die Sporifikation wurde auf unglasierten Porzellantiegeln eingeleitet, die an Stelle der Gypsblöcke handlicher und reinlicher sind. Fehlen diese porösen Tiegel, so ersetzt auch ein Bougie Chamberland, eine Filterzelle, den Zweck, indem man diese verschließt und passende Stücke in eine Kartoffelschale bringt. Kartoffelschalen aus gefärbtem Glase, braun, rot oder grün mit aufgeschlossenem Deckel sind durch die Glasfabrik von Poncet in Berlin zu beziehen; die porösen Tiegel fertigt die Firma Haldenwanger in Charlottenburg. Stellt man einen solchen kleinen Tiegel umgekehrt in die Kartoffelschale, welche eine Lage Filtrierpapier am Boden und ein Spur Wasser enthält, so saugt sich dieser Tiegel von unten nach oben mit Wasser an, bleibt immer feucht, das Wasser cirkuliert leicht und das Wachstum der Sporen in den Hefenzellen geht leichter von statten als auf den bekannten Gypsblöcken, in welchen eine Wasserströmung nur sehr gering stattfinden kann.

Auch die Schizosaccharomyceten zeigten die Bildung von Zellkernen, wie es bei den von mir aufgestellten Species „Schizosaccharomyces Musae und Schizosacharomyces badicus" sowie auf der bekannten Pombehefe nachgewiesen werden konnte. Die neuen Hefen sind durch Král in Prag im Handel käuflich zu beziehen.

In Bezug auf die wilden Hefen sei noch bemerkt, daß die als typisch angesehene Wurstform der Hefenzellen nicht immer nur bei der wilden Hefe auftritt, sondern daß diese Formen auch bei reingezüchteten Kulturhefen vorkommen. Es ist also nicht möglich, aus dem mikroskopischen Bilde auf Kultur oder wilde Hefe urteilen zu können.

Diese wilden Hefen entwickeln sich mit Vorliebe bei niederer Temperatur und sind hier der Kulturhefe überlegen, während bei höheren Wärmegraden die Kulturhefe die stärkere ist und die Entwicklung der wilden Hefe unterdrückt. Unsere Brauereien sind auf die Verwendung der Kulturhefe eingerichtet und in der Praxis haben sich gewisse Grundsätze ausgebildet, nach denen man für helle Biere die hochvergärende Hefe, für dunkle Biere die niedrigvergärenden Hefen verwenden soll. Es ist jedoch nur eine Frage der Zeit, die wilden Hefen in Kulturhefen zu verwandeln und durch Verwendung dieser ganz besondere Vorteile im Braugewerbe zu erzielen. Sobald wir die Hefe in Reinkultur haben und durch Generationen weiterzüchten, besitzen wir ja thatsächlich eine Kulturhefe, gleichgiltig ob dieselbe ihren Fundort hier oder dort besaß, denn jede Kulturhefe, auch die reine Bierhefe, ist ja von Haus aus eine wilde Hefe und erst durch langes Züchten zu dem geworden, was sie heute ist. Dabei muß man beachten, daß es nicht ausgeschlossen ist, daß sich täglich neue Unterarten, Varietäten und Rassen ausbilden, welche durch Anpassung und Auswahl, durch Vermehrung und eventuelle Wechselbefruchtung

zustande kommen können. So verschieden das mikroskopische Bild einer Hefe ist in Bezug auf Plasmainhalt, Körnchen, Zellkern, Vakuolen und äußere Haut, so verschieden ist auch jedenfalls die chemische Thätigkeit in Bezug auf Bildung von Riech- und Geschmackstoffen.

Zusammenstellung der untersuchten Hefen:

I. weiße Hefen:

Saccharomyces apiculatus
" neoformans
" Pasteurianus I Hansen
" " II "
" " III "

II. graue Hefen:

Saccharomyces conglomeratus Rees
" sphaericus

III. gelb-braune Hefen:

Saccharomyces flavescens
" badius

IV. gelb-rote Hefen:

Saccharomyces glutinis
" roseus rotundus
" " longus

V. schwarze Hefen:

Saccharomyces niger.

Hieran schließen sich die bekannten Arten der Spalthefen:

Schizosaccharomyces
" Musae
" niger.

Die Liste ließe sich noch erweitern, doch waren die übrigen uns zur Verfügung stehenden Hefen noch nicht als spezifisch anerkannt.

Leipzig, Juli 1902.

Bakteriologische Untersuchungen über Mehlteiggärung.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich.]

Von **Wilh. Holliger,** Seminarlehrer in Wettingen (Aargau, Schweiz).

(Fortsetzung.)

Noch in einem anderen wichtigen Punkte schienen die Angaben von Wolffin sich mit unseren Befunden weder bezüglich des weißen noch des gelben Gasbildners decken zu wollen. Gelegentlich hatten wir die Beobachtung gemacht, daß längere Zeit bei Zimmertemperatur aufbewahrte Gelatinekulturen derselben vollständig verflüssigt waren. Da dieses Resultat auf irgend welche Zufälligkeiten, wie z. B. Ueberheizung des Zimmers oder Verwendung einer Gelatine von abnormal niedrigem Schmelzpunkt

zurückgeführt werden könnte, so leiteten wir systematische Versuche über das Verflüssigungsvermögen der beiden Stäbchen gegenüber Gelatine ein. Das Ausgangsmaterial bildeten Gelatinestrichkulturen, die in einen Thermostaten von 22° gestellt wurden. In der ersten Tabelle sind die Resultate mit 3 Stämmen (I, II, III) des gelben Gasbildners aus 3 verschiedenen Teigproben zusammengestellt. Nach 4 Tagen zeigten alle 3 Kulturen starke milchige Trübung der Gelatine unterhalb des Kulturrasens.

a) Gelber Gasbildner.

	I	II	III
Kultur 7 Tage alt	Am Grunde der schiefen Fläche beginnende Verflüssigung. Kultur etwas eingesunken	Starke Verflüssigung, Kulturmaterial über die schiefe Fläche hinuntergerutscht	Verflüssigung schwach beginnend
Kultur 9 Tage alt	Verflüssigung sehr minim, am geringsten von allen 3 Stämmen	Am Grunde der schiefen Fläche $2^1/_2$ cm hohe verflüssigte Gelatineschicht	Kulturmaterial hinunter gerutscht. Gelatine beginnt unten deutlich zu fließen
Kultur 11 Tage alt	Deutliche Verflüssigung am Grunde des Gläschens	Alle Gelatine bis auf einen kleinen Rest flüssig geworden	Ziemlich stark verflüssigt, in der Mitte zwischen I und II stehend

Parallel mit diesen Versuchen gingen solche mit 7 Stämmen des weißen Gasbildners aus 5 verschiedenen Teigproben. Als nach 11 Tagen alle drei Kulturen des „gelben" deutlich verflüssigt hatten, waren bei den Gelatinestrichkulturen der weißen Form noch nirgends Anzeichen beginnender Verflüssigung wahrzunehmen, wohl aber milchige Trübung der Gelatine; das weitere Verhalten veranschaulicht folgende Zusammenstellung:

b) Weißer Gasbildner.

	I	II	III	IV	V	VI	VII
Nach 14 Tagen	Beginnende Verflüssigung	—	Beginnende Verflüssigung	—	—	—	—
Nach 19 Tagen	Deutliche Verflüssigung	—	Deutliche Verflüssigung	Deutliche Verflüssigung	—	Deutliche Verflüssigung	Deutliche Verflüssigung
Nach 22 Tagen	Starke Verflüssigung, mehr als $^1/_3$ der Gelatine	—	Starke Verflüssigung, etwa $^1/_4$ der Gelatine	Starke Verflüssigung, etwa $^1/_4$ der Gelatine	Verflüssigung ganz schwach, kaum sichtbar	Weniger als bei III verflüssigt	Verflüssigung ungefähr so stark wie bei VI
Nach 26 Tagen		Noch keine Verflüssigung			Deutliche, sehr starke Verflüssigung		

Nach $1^1/_2$ Monaten zeigte II noch keine Verflüssigung. Die Kultur wurde nun aus dem Thermostaten genommen und bei Zimmertemperatur gehalten. Als ca. $^1/_2$ Monat später nachgeschaut wurde, war auch hier die Gelatine zum Teil deutlich verflüssigt. Nicht geimpfte Kontrollgläschen waren dauernd fest geblieben.

Eine zweite Versuchsreihe, welche mit 5 gelben und 5 weißen Stämmen aus 5 Teigproben eingeleitet wurde, führte zu dem gleichen Ergebnis. Im Thermostaten von 22° zeigten nach 10 Tagen alle gelben Stämme Verflüssigung, aber in verschieden hohem Grade. Zwei weiße Stämme begannen nach 14 Tagen zu verflüssigen, zwei weitere nach 17 Tagen, während der fünfte Stamm zur Einleitung der Verflüssigung mehr als einen Monat bedurfte.

Gelatinestichkulturen verflüssigten ebenfalls, ebenso Plattenreinkulturen, wenn sie genügend lange und geschützt vor Austrocknung aufbehalten wurden.

Beide fakultativ anaëroben Gasbildner verflüssigen die Gelatine, allerdings ziemlich langsam.

Die Verflüssigungsfähigkeit der einzelnen Stämme ist eine verschieden große.

Durchschnittlich verflüssigt der gelbe Gasbildner rascher als der weiße.

Im Folgenden sind für einige der gebräuchlichsten Nährböden die Kulturmerkmale des weißen und gelben Gasbildners zum besseren Vergleich nebeneinander gestellt. Die in erster Linie Beachtung verdienenden Gelatineplattenkolonieen sind weiter unten zusammen mit den Kolonieen verschiedener Coli-Stämme beschrieben.

Verhalten der beiden Gasbildner auf verschiedenen Nährböden.

Gelatinestich. Weiß: Kräftiges Wachstum bis auf den Grund des Stiches, im Stichkanal Knötchenbildung. Bildung einzelner Gasblasen. An der Oberfläche weißlicher Ueberzug mit unregelmäßig gelapptem Rand, dünn, wenig erhaben, coli-artig. Die Ausbreitung pflanzt sich fort bis an den Rand des Gläschens. Langsame Verflüssigung der Gelatine mit vorangehender milchiger Trübung.

Gelb: Wachstum und Knötchenbildung anfänglich wie bei „weiß“. Später an der Oberfläche der Gelatine gelblicher, scharfrandiger, glänzender, fast kreisrunder, über die Oberfläche erhabener Ueberzug, der sich nur schwach ausbreitet. Nach ca. 14 Tagen starke milchige Trübung der Gelatine, der Ueberzug beginnt sich einzusenken (beginnende Verflüssigung).

Bouillon. Weiß: Starke Trübung des Nährbodens, ein Bodensatz von weißer Farbe setzt sich ab. Keine Deckenbildung.

Gelb: Bodensatz von hellgelblicher Färbung. Trübung nicht so stark wie bei „weiß“. Neigung zur Deckenbildung, wenigstens bildet sich an der Oberfläche der Bouillon am Glas ein Ring, von dem sich Material loslöst und in die Tiefe fällt.

Milch. Weiß: Nur ganz langsame Koagulierung bei Zimmertemperatur. Farbloses Serum unterhalb der Rahmdecke.

Gelb: Wie „weiß“. Immerhin koaguliert die Milch eher, aber auch erst nach mehreren Tagen.

Kartoffel. Weiß: Mäßiges Wachstum, Belag schmutzig weiß, nicht glänzend, wenig über die Oberfläche vortretend.

Gelb: Kräftiges Wachstum, Belag intensiv gelb gefärbt, saftig glänzend,

stark über den Nährboden vortretend, schleimig. Anfänglich sind einzelne Impfstriche sichtbar, die aber nach und nach zusammenfließen.

Agarstrich. Weiß: Kräftiges Wachstum. Impfstrich weiß, schwach glänzend, Rand ziemlich scharf.

Gelb: Wie bei „weiß“, aber Farbe gelb, Belag stark glänzend.

Diese Ergebnisse haben uns nicht in den Stand gesetzt, durch eine Vergleichung mit den von Wolffin für Bac. levans gemachten Angaben die Frage zu entscheiden, welcher unserer beiden Gasbildner Wolffin bei seinen Studien vorgelegen hat. Wenn Wolffin für die Gelatineplattenkolonieen und für die Kartoffelkulturen gelbe Farbe erwähnt, so ist die Vermutung nicht unberechtigt, es könnte derselbe den „weißen“ und „gelben“ unter den Händen gehabt und vielleicht zeitweise verwechselt haben. Eine solche Verwechselung ist bei Abimpfung sehr junger oder atypischer Kolonieen nicht ausgeschlossen. Anders fällt der Vergleich mit dem von F. Fränkel aus gärendem Teig gezüchteten Gasbildner aus. Aus dessen Beschreibung ist der „weiße“ ohne weiteres zu erkennen, wenn auch zunächst der Widerspruch bezüglich der Verflüssigung der Nährgelatine eine Identifizierung nicht erlaubt. Die außerordentliche Häufigkeit und Regelmäßigkeit des Vorkommens unserer Gasbildner in Mehlen resp. Teigen der verschiedensten Provenienz schloß nun den Gedanken aus, die Würzburger Forscher hätten es in den von ihnen untersuchten Proben mit anderen Arten zu thun gehabt und ließ es wahrscheinlich erscheinen, daß Differenzen, wie z. B. diejenige bezüglich des Verflüssigungsvermögens, nicht in einer Verschiedenheit der Thatsachen, sondern in einer Verschiedenheit der Versuchsanstellung und Beobachtungsdauer beruhen. Diese Anschauung erwies sich denn auch als vollständig richtig, als wir in der Lage waren, eine Reinkultur des Bac. levans, die uns vom Král'schen Institut in Prag geliefert worden war, direkt mit unseren Gasbildnern zu vergleichen. Die nähere Prüfung derselben ergab schlagend vollständige Identität mit dem „weißen“.

Vergleichung der Gasbildner aus Teig mit Bact. coli.

Wenn F. Fränkel findet, daß durch den von ihm geleisteten Nachweis der Milchkoagulierung und Indolbildung bei Bac. levans dieser letztere sich noch mehr dem Bact. coli nähert, als es nach Wolffin's Untersuchungen den Anschein hatte, so kann gegen diese Schlußfolgerung gewiß nichts eingewendet werden. Thatsächlich würde sich aus den von Fränkel über Bac. levans gemachten Angaben als einziger Unterschied eine etwas verminderte Pathogenität gegenüber dem Bact. coli ergeben. Dieses Kriterium allein könnte aber höchstens dann eine Artentrennung bedingen, wenn Bac. levans überhaupt nicht pathogene Wirkungen zeigte. Da es sich aber nur um graduelle Unterschiede im pathogenen Charakter handelt, so verbleibt anscheinend kein einziger durchgreifender Unterschied und man müßte auch Papasotiriu bei-

pflichten, wenn er angesichts dieser Sachlage zu der Forderung gelangt, die Art Bac. levans sei vom Bact. coli nicht unterscheidbar und deshalb fallen zu lassen.

Ein Blick auf unsere Befunde bezüglich des Verflüssigungsvermögens des mit dem „weißen" Gasbildner identischen Bac. levans stellt uns aber vor eine äußerst wichtige Thatsache, die mit der eben erwähnten Schlußfolgerung nicht vereinbar ist. Bacillus levans gehört zu den die Gelatine verflüssigenden Kurzstäbchen, Bact. coli ist bis jetzt von allen Forschern als nicht verflüssigend angegeben worden. Das Merkmal ist offenbar ein durchgreifendes, denn bei den zahlreichen im hiesigen Institut schon untersuchten Levans-Stämmen hat es nie versagt. Es erhob sich nun die Frage, ob vielleicht für Bact. coli oder wenigstens bei einzelnen Stämmen desselben bei genügend ausgedehnter Beobachtungszeit auch Verflüssigung nachgewiesen werden könne. Um dies zu entscheiden, war es notwendig, eine Anzahl Gelatinekulturen verschiedener Coli-Stämme neben einer Anzahl Levans-Kulturen (als solche bezeichnen wir von jetzt an auch die Kulturen unseres weißen Gasbildners) unter denselben für allfällige Verflüssigung günstigen Bedingungen aufzubewahren und von Zeit zu Zeit zu untersuchen. Uebrigens war vorauszusehen und gelegentlich gemachte Beobachtungen hatten schon darauf hingewiesen, daß die Unterschiede zwischen Bac. levans und Bact. coli mit dem Merkmal der Verflüssigung und der verschieden starken Pathogenität noch nicht erschöpft sein würden. Es wurde deshalb eine größere Versuchsreihe in Angriff genommen, welche nicht nur die Frage der Verflüssigung, sondern auch andere Punkte durch unmittelbare Vergleichung von Kulturen beider Arten zu untersuchen erlaubte.

Die Ausgangskulturen waren mit Ausnahme des von Král bezogenen Bac. levans, sämtlich frisch aus ihren natürlichen Aufenthaltsmedien gezüchtet, und zwar gelangten zur Verwendung: 3 Stämme unseres weißen Gasbildners aus ebenso vielen spontan gärenden Teigproben isoliert, 3 in derselben Weise gewonnene Stämme unseres „gelben" Gasbildners, ferner 3 von verschiedenen Menschen und 3 von verschiedenen Kühen stammende Coli-Stämme. Bei den „weißen" und den „gelben" wurde aus den Originalplatten je eine den Durchschnittstypus repräsentierende Kolonie, deren Verhalten im hängenden Tropfen ein normales war, zur Weiterzüchtung verwendet. Die 6 Coli-Stämme waren aus Kolonieen der Originalplatten gewonnen, welche folgende Forderungen erfüllt hatten: 1) Sog. coli-ähnliches Wachstum auf der Oberfläche der Gelatineplatte; 2) im hängenden Tropfen die für das Bact. coli typische Bewegungsart und 3) bei der Ueberimpfung auf Dextroseagar Gasbildung.

Bei der Beschaffung typischer Coli-Stämme stießen wir auf einige Schwierigkeiten, indem es bei mehreren Personen nicht gelingen wollte, coli-ähnliche Kolonien, die zugleich aus typisch beweglichen Kurzstäbchen bestanden, aufzufinden. Der Kot von 2 Kühen ließ ebenfalls bewegliche Coli-Bakterien vermissen.

Die geeignet befundenen Kolonieen wurden zuerst nochmals dem Plattenverfahren zum Zweck allfälliger Reinigung unterworfen und dann auf schräg erstarrtes Agar übertragen. Da alle Isolierungen binnen wenigen Tagen vorgenommen wurden, so verfügten wir bei dem Beginn der Versuche über ein gleichmäßiges und nicht durch vielmalige Weiterzüchtung beeinflußtes Ausgangsmaterial.

Für die verschiedenen Stämme aus Teig sind im Folgenden die Bezeichnungen weiß resp. gelb I, II, III und für die aus Menschen und Kühen erhaltenen Coli-Stämme die Bezeichnungen Coli M I, II, III und Coli K I, II, III gebraucht.

a) Plattenkolonieen.

Da es sich im vorliegenden Falle darum handelte, allfällige Unterschiede zwischen dem Verhalten des Bact. coli und einer coli-ähnlichen Art festzustellen, schien es angezeigt, möglichst günstige und gleichmäßige Bedingungen zu wählen. Solche finden sich in erhöhtem Maße bei Verwendung von sogenannten Oberflächenplatten. Die Keime werden bei diesen nur auf die Oberfläche des im sterilen Zustande ausgegossenen und erstarrten Nährbodens gebracht und stehen demnach bezüglich des Luftzutrittes sämtlich unter denselben Bedingungen. Zur Herstellung solcher Platten benutzten wir das seiner Zeit von R. Burri[1]) angegebene Verfahren, das darauf beruht, daß die Keime aus einem Zerstäuber in äußerst feinem Sprühregen auf die Platten fallen, welche zu diesem Zweck nur einen Moment abgedeckt zu werden brauchen. Man erhält auf diese Weise außerordentlich schöne, bezüglich der Gleichmäßigkeit der Form und Verteilung der Kolonieen geradezu ideale Plattenbilder.

(Siehe Tabelle S. 367.)

Die Kolonieen des gelben Gasbildners sind demnach deutlich verschieden von Coli und würden wohl von Niemand damit identifiziert. Der weiße Gasbildner und Levans hingegen zeigen in ihren Kolonieen große Aehnlichkeit mit denen von Coli. Im allgemeinen sind sie aber dicker, mit steil abfallendem Rand und oft, namentlich im vorgeschrittenen Alter, mit flacher, angelagerter Randzone versehen. Dieses Unterscheidungsmerkmal ist nicht scharf und nicht immer gut zu sehen, namentlich dann nicht, wenn die Platten etwas dicht besät sind. Immerhin darf gesagt werden, daß eine in günstigem Verhältnis besäte reine Platte des Bact. coli von einer ebensolchen Platte des Bac. levans im Alter von 3—4 Tagen mit Leichtigkeit zu unterscheiden ist, vorausgesetzt, daß es sich in beiden Fällen um typische Stämme handelt.

Die Dimensionen der Stäbchen geben keinen Anhaltspunkt zur Unterscheidung der Coli-Rassen von den beiden anderen Gasbildnern. Allerdings sind durchschnittlich die Coli-Stäbchen etwas

---

1) Burri, R., Ueber einige zum Zwecke der Artcharakterisierung anzuwendende bakteriologische Untersuchungsmethoden nebst Beschreibung etc. (Dissertation.) Zürich 1893.

Gew. Gelatine-Oberflächenplatten (bei 16—19° C).

	Makroskopischer Befund.	Mikroskopischer Befund.
Weiß I.	Nach 3 Tagen: Einigermaßen coli-ähnliche Scheibchen, aber dicker, undurchsichtiger, mit steil abfallendem Rand. Umriß bei vielen Kolonieen auffallend polygonal. An der Peripherie bei einigen flache, jüngere, angelagerte Zone (besser mit Lupe zu sehen). Bei schwacher Vergrößerung ähnlich wie Coli, namentlich die flache Randzone.	Aus 4 Tage alter Platte: Im hängenden Tropfen Stäbchen von meist $1^1/_2$—2 μ Länge, aber auch solche von 3 μ nicht selten, vereinzelt finden sich 10, sogar 20 μ lange Fäden. Dicke gewöhnlich ca. $^3/_4$ μ, oft weniger, selten mehr. Keine Ketten, sogar selten Doppelstäbchen. Bewegung bei den meisten vorhanden, zum Teil blitzschnell, meist in Bogen, auch purzelnd.
Weiß II.	Nach 3 Tagen: Dichter gelagerte Kolonieen ähnlich wie I, stärker glänzend. Bei größeren, weniger dicht gelagerten Kolonieen ist die flache Randzone stärker entwickelt. Kolonieen letzterer Art sehr coli-ähnlich.	Aus 4 Tage alter Platte: Stäbchen auffallend durch geringe Dimensionen, viele nur 1 μ oder $^5/_4$ μ lang bei höchstens $^3/_4$ μ Dicke, also rundlich-ovale Formen. Bewegung nur bei einem geringeren Teil, nicht sehr lebhaft, mehr coli-ähnlich.
Weiß III.	Nach 3 Tagen: Wie I. Flache Randzone fast gar nicht ausgebildet.	Aus 4 Tage alter Platte: Aehnlich II. Durchschnittliche Länge der Stäbchen etwas größer bei gleicher Dicke, Formen also etwas schlanker. Vereinzelt 10 μ lange Fäden. Bewegung nur bei einem geringeren Teil und nicht besonders lebhaft.
Gelb I.	Nach 3 Tagen: Kreisrunde, etwas gewölbte, glänzende Scheibchen von ausgeprägt gelber Farbe, Randzone etwas weißlich.	Aus 4 Tage alten Platten: Bei schwacher Vergrößerung radial-feinfaserige Struktur. Im hängenden Tropfen: Formen etwas kräftiger, gewöhnlich 1,5—2 μ lang, mitunter etwas über $^3/_4$ μ dick. Einzelne 10 μ lange Fäden vorhanden. Bewegung bei einem großen Teil meist lebhaft, zum Teil sogar pfeilgeschwind, so daß das Auge kaum folgen kann.
Gelb II.	Nach 3 Tagen: Wie I.	Aus 4 Tage alten Platten: Aehnlich, etwas weniger lebhafte Bewegung. Keine langen Fäden gesehen.
Gelb III.	Nach 3 Tagen: Stark glänzende, schwach weißlichgelbe, im Umriß ganz unregelmäßige, an verlaufende Flüssigkeitstropfen erinnernde Kolonieen, flach gewölbt, von dünn-schmieriger Konsistenz.	Aus 4 Tage alten Platten: Stäbchen selten länger als 1,5 μ, meist kürzer, bis 1 μ. Dicke sehr wechselnd, von $^1/_3$ μ bis 1 μ. Vereinzelt ganz plumpe, über 1 μ dicke Formen (Involutionsformen?) Bewegung sehr selten bei einem Stäbchen zu sehen. Lange Fäden nicht beobachtet.
Levans.	Nach 3 Tagen: Aussehen der Kolonieen ungefähr wie bei „Weiß“, d. h. etwas dicker und undurchsichtiger als Coli, dafür der Rand mehr oder weniger steil abfallend.	Aus 4 Tage alten Platten: Länge 1—1,5 μ, Breite sehr oft $^3/_4$ μ nicht erreichend. Eingestreut vereinzelte 4—6 μ lange, aber dann gewöhnlich abnorm dicke Stäbchen. Bewegung bei einem großen Teil der Stäbchen vorhanden, recht lebhaft, aber doch nicht so schnell, wie in jungen Dextroseagarkulturen bei 30° C (vide später).

	Makroskopischer Befund.	Mikroskopischer Befund.
Coli K I	Nach 3 Tagen: Typisch coliartiges Wachstum.	Aus 4 Tage alten Platten: Stäbchen von 1—2 μ Länge und ca. $^3/_4$ μ Dicke. Keine vereinzelte lange Fäden. Bewegung fehlt.
Coli K. II.	Nach 3 Tagen: Wie I, Auflagerung eher etwas dicker.	Aus 4 Tage alten Platten: Stäbchen im allgemeinen kräftiger, viele annähernd 2 μ lang und 1 μ dick, vereinzelte 10—15 μ lange unbewegliche Fäden. Keine Bewegung.
Coli K. III.	Nach 3 Tagen: Wie I.	Aus 4 Tage alten Platten: Stäbchen ebenso kräftig wie bei K II. Der größere Teil 2 μ lang und annähernd 1 μ dick. Keine Bewegung, keine langen Fäden.
Coli M I.	Nach 3 Tagen: Typisch coliartiges Wachstum.	Aus 4 Tage alten Platten: Mehrzahl der Stäbchen kürzer als 1,5 μ, einzelne aber auch bis 2 μ. Vereinzelte 15 und mehr Mikron lange Fäden. Dicke 0,75—1 μ. Bewegung vorhanden, aber die Mehrzahl der Stäbchen ist unbeweglich.
Coli M II.	Nach 3 Tagen: Wie Coli M I.	Aus 4 Tage alten Platten: Stäbchen entschieden kleiner als K II und K III. Vielfach kurz oval. Stäbchen von $^1/_2$, höchstens $^3/_4$ μ Dicke und 1 μ Länge, aber auch Stäbchen bis 2 μ Länge, einige sogar von 5 und 6 μ, dabei etwas verbogen oder einseitig verdickt. Auch ein längerer Faden von 20 μ Länge. Bewegung fehlt.
Coli M III.	Nach 3 Tagen: Wie Coli M I.	Aus 4 Tage alten Platten: Die meisten Stäbchen 1,5 μ lang, ca. $^3/_4$ μ dick. Einzelner langer Faden von über 20 μ. Bewegung vorhanden, aber spärlich. Mehrere Stäbchen zu Konglomeraten vereinigt.

kräftiger als die anderen, der Unterschied ist aber ein geringer und kein durchgreifender, da die Stäbchen auf den verschiedenen Nährsubstraten sehr starken Variationen unterworfen sind. Auf Kartoffeln und zuckerhaltigen Nährböden haben wir z. B. für „gelb" und „weiß" oft Stäbchen von über 3 μ Länge gemessen, was mit den von F. Fränkel mitgeteilten Zahlen übereinstimmt.

In Bezug auf die Bewegung hingegen stimmen die Gasbildner des Mehles nicht überein mit Bact. coli. Zwar sind, wie aus vorstehender Tabelle hervorgeht, die 4 Tage alten Gelatineplatten nicht gerade geeignet, die Unterschiede einwandsfrei zu zeigen. Spricht doch der Umstand, daß mehrere Coli-Stämme sich hier als unbeweglich erwiesen, gegen die Eignung des Untersuchungsmaterials für den fraglichen Zweck. Deutlich sprechen für einen Unterschied hingegen 16 Stunden alte, bei 30° C gehaltene Dextrose-Agarstichkulturen, wie die nachfolgende Zusammenstellung zeigt.

Bezeichnung	Ergebnis der Untersuchung im hängenden Tropfen
Weiß I.	Meist $1^1/_2$—2 μ lang und ca. $^3/_4$ μ breit, mitunter etwas darüber. Lange Fäden nicht beobachtet, aber sehr häufig Teilungsstadien. Die meisten Stäbchen beweglich unter schlagender Bewegung des hinteren Endes, aber auch ohne eine solche, ähnlich einem abgeschossenen Pfeil.
Weiß II.	Wie bei I.
Weiß III.	Wie bei I.
Gelb I.	Aehnlich wie bei Weiß I, aber ein größerer Teil unbeweglich.
Gelb II.	Wie Gelb I.
Gelb III.	Wie Gelb I.
Levans.	Wie Weiß I.
Coli K I.	Stäbchen meist 1,5—2 μ lang und annähernd 1 μ dick oder etwas weniger. Viele beweglich, aber niemals so lebhaft wie bei „Weiß, Gelb oder Levans". Bewegung läßt sich mit dem Auge verfolgen, das hintere Ende meist stark schlagend, auch Drehung um die Querachse.
Coli K II.	Aehnlich K I.
Coli K III.	Aehnlich K I, aber bewegliche Zellen spärlicher.
Coli M I.	Aehnlich in den Formen, doch Variation größer, namentlich in der Dicke, $^1/_2$—1 μ.
Coli M II.	Dimensionen schwanken, auch hier etwas stärker als bei coli K. Bewegung bei vielen vorhanden, auch bei einem über 20 μ langen Faden ganz unzweifelhaft.
Coli M III.	Formen ähnlich M I und M II, auch hier Bewegung vorhanden.

Bei sämtlichen aus Teig stammenden Gasbildnern, den von Král bezogenen Bac. levans mitgerechnet, findet sich unter den erwähnten Versuchsbedingungen eine Intensität der Bewegung, wie sie bei keinem der 6 Coli-Stämme konstatiert werden konnte. Es ist hier ähnliches zu sagen wie von dem Aussehen der Gelatineplattenkolonieen, nämlich: Unter günstigen Versuchsbedingungen sind typische Stämme von Bact. coli und Bac. levans mit Leichtigkeit bei der Prüfung im hängenden Tropfen an der Intensität und Art der Bewegung zu unterscheiden.

Die Frage war naheliegend, ob der Verschiedenheit in der Bewegung bei den 2 Gruppen Verschiedenheit in Zahl und Anordnung der Geißeln entsprechen würde. Diesbezügliche Untersuchungen hatten ein negatives Ergebnis. Die Geißelfärbung wurde nach der Methode von van Ermengem ausgeführt und zeigte mit aller Deutlichkeit, daß sowohl die verwendeten Coli-Stämme als auch diejenigen des weißen Gasbildners dem peritrichen Typus angehören. Dasselbe war der Fall für Gelb I und II, während bei Gelb III die Frage offen bleiben mußte, ob dieser Stamm nur eine polare Geißel oder ein polares Geißelbüschel trägt oder wie die übrigen peritrich ist. Uebrigens sind in der Litteratur auch eingeißelige Coli-Stämme beschrieben.

b) Verflüssigung der Gelatine.

Ausgehend von den 13 Agarstrich-Stammkulturen haben wir 3 Versuchsreihen zur Untersuchung der Verflüssigungsfähigkeit angelegt. Alle hier in Frage kommenden Rassen wachsen bei 30° und bei Bruttemperatur sehr kräftig, stärker als bei Zimmertemperatur. Werden Gelatinestichkulturen diesen höheren Temperaturen ausgesetzt, so schmilzt natürlich die Gelatine und der besondere Charakter der Stichkultur geht verloren. Die eingeimpften Bakterien werden aber besser wachsen als bei Zimmertemperatur und wenn sie imstande sind, ein peptonisierendes Enzym abzuscheiden, so werden sie das voraussichtlich in höherem Maße thun. Es muß ein Moment kommen, wo die Gelatine durch Abkühlung nicht mehr zur Erstarrung gebracht werden kann, weil sie durch das Enzym verflüssigt ist. Ausgehend von diesen Ueberlegungen haben wir je eine Reihe von Gelatinestichkulturen im Thermostaten bei 30° und bei 36° sich entwickeln lassen. Von Zeit zu Zeit wurden die Gläschen mit der geschmolzenen Gelatine in kaltes Wasser gestellt, um zu kontrollieren, ob die Gelatine noch in feste Form übergehen könne. Zum Wachstum der Kulturen ist folgendes zu bemerken: In den Stichkulturen ist Levans am kräftigsten, auf den Strichkulturen am schwächsten gewachsen. Durch das fortwährende Züchten im Stich im Král'schen Institut hat er offenbar eine mehr anaërobe Lebensweise angenommen, während sein aërobes Wachstum etwas geschädigt wurde. Ueber den Ausgang der Versuche orientieren die Tabellen. Sämtliche 6 Coli-Rassen haben sich vollkommen gleich verhalten, weshalb wir sie unter der Kollektivbezeichnung „Coli“ zusammenfassen. In den Stichkulturen ist die Gelatine nicht mehr erstarrt, also vollständig verflüssigt gewesen nach der in den Kolonnen angegebenen Zahl von Tagen.

Gelatinestichkulturen.

	Gelb I	Gelb II	Gelb III	Weiß I	Weiß II	Weiß III	Levans	Coli
30°	5	5	5	12	12	12	12	—
36°	5	5	5	12	11	12	12	—

Schon einige Tage bevor die Verflüssigung eine totale wurde, zeigten sich Anzeichen derselben, indem das Wiedererstarren gegenüber Coli ein sehr verspätetes war. Bei Zimmertemperatur wurde dann die Gelatine überhaupt nicht mehr fest, und hatte man sie im kalten Wasser zum Erstarren gebracht, so wurde sie im mäßig warmen Zimmer wieder flüssig. Die Zahlen der Tabelle bezeichnen die Zeitdauer, nach welcher auch im fließenden kalten Wasser Erstarrung nicht mehr erfolgte. — Die Coli-Kulturen blieben noch mehr als eine Woche länger in den Thermostaten, ohne auch nur die geringsten Anzeichen eintretender Verflüssigung aufzuweisen.

Gelatinestrichkulturen (bei 18—20° C).

	Nach 9 Tagen	Nach 12 Tagen	Nach 14 Tagen	Nach 16 Tagen
Gelb I		Beginnende Verflüssigung. Ein Teil des Kulturmaterials ist über die schiefe Fläche hinuntergerutscht, unten deutliche Einsenkung in die Gelatine	Unten am Strich deutl. Fließen der Gelatine bemerkbar	Starke Verflüssigung
Gelb II	Anzeichen beginnender Verflüssigung. Die Kulturmasse ist auf kurze Strecke in die Gelatine eingesunken	Deutl. Fließen der Gelatine	Starke Verflüssigung	Gel. am Grunde der Kultur fast vollständig verflüssigt
Gelb III	Deutliche starke Verflüssigung	3 cm dicke verflüssigte Gelatineschicht		Gelatine unterhalb des Impfstrichs vollst. verflüssigt
Weiß I			Unten am Strich deutlich beginnende Verflüssigung	Deutl. Fließen der Gelatine bemerkbar
Weiß II		Infolge Verflüssigung d. Unterlage ist ein Teil des Kulturmaterials über d. schiefe Fläche hinuntergeglitt.	Ca. $^{3}/_{4}$ cm dicke verflüssigte Gelatineschicht	Starke Verflüssigung
Weiß III		Wie Weiß II, nur stärker, deutl. Fließen der Gelatine.	Starke Verflüssigung, mehr als Weiß II	Gelatine fast vollständig verflüssigt
Levans			Anzeichen verflüssig. Thätigkeit	Deutl. Fließen d. Gelatine, ungefähr wie bei Weiß I
Coli	Keiner der 6 Coli-Stämme zeigte auch nur die geringsten Anzeichen von Verflüssigung, obwohl die Kulturen noch 14 Tage länger aufbehalten und beobachtet wurden.			

Unsere beiden Gasbildner, mit Einschluß von Bac. levans, verflüssigen die Gelatine, während dem Bact. coli diese Fähigkeit abgeht.

(Fortsetzung folgt.)

The Aëration of Milk.

By **Charles E. Marshall**,

Bacteriologist and Hygienist of Experiment Station Michigan Agricultural College Michigan.

(Fortsetzung.)

Pflüger's analyses are as follows: —

First Analysis.

Carbon dioxide .	90,45	per cent.
Oxygen . . .	1,19	„ „
Nitrogen . . .	8,36	„ „

Amount of milk used was 60,77 c.cm. Amount of gas obtained per 100 c.cm. was 8,47 c.cm. No trace of gas was obtained after one hour.

Second Analysis.

Carbon dioxide .	87,16	per cent.
Oxygen . . .	1,06	„ „
Nitrogen . . .	11,78	„ „

Amount of gas per 100 c.cm. of milk was 8,49 c.cm. Amount of milk used 77,319 c.cm.

The analyses of all these men were made directly after milking, and did not extend over a time sufficient to warrant fermentation. Pflüger was of the opinion that he had secured all the gas possible within our hour's time and made no allowance for a slow generation of gas after the hour, when subjected to high pressure. This is not in accord with our experience, for after the first ebullition of gas which takes place early in the pumping process there follows a slight development of gas until fermentation sets in, when there is a marked increase.

III. Description of Apparatus.

For our experiments we departed from the methods used by Hoppe, Stechnow, and Pflüger, in that we endeavored to eliminate any possible chance of exposure of the milk to the air. Pflüger's method, the best previously adopted, is open somewhat to criticism in that there is a possible chance of the milk coming in contact with the air or being more or less churned with traces of air. His analyses, however, indicate that errors of this kind scarcely made any difference, in fact, he seems to have obtained about the same amounts of oxygen in his experiments as were obtained in ours. In order to secure the milk from the udder of the cow without any exposure to the air we employed a milking tube 6,6 c.cm. long attached and fitted to a piece of pressure tubing 80 cm. long and 5 mm. in diameter. The walls of this tube were 4 mm. thick. Over the aperture of the milking-tube was placed a piece of thick rubber tubing of small caliber so that it just fitted

the tube. This served as a slide valve in closing and opening the apertures. The other end of the rubber tube was attached to a glass tube, 5 mm. bore, containing a three way stop-cock and this in turn was attached to the receptacle used as a container for the milk by means of a short piece of pressure tubing. This will now be described.

The container for the milk is of the nature of a large bulb of heavy glass fixed securely to a standard of wood. It has three openings all of which are closed by means of a glass stop-cock at will. One of these openings is at the bottom of the bulb, another directly above at the top and the other a side arm on the right shoulder. The top arm consisted of a capillary tube containing a three way stop-cock an inch above the bulb, and above this a cup and the male portion of a mercury overlapping glass connection. The bottom opening and right shoulder opening were tubes 5 mm. in diameter, fitted with two way stop-cocks. When ready for use, this bulb, with a capacit yof 562 c.cm., was filled with dry mercury. The side arm connected with the tube extending to the milk-duct of the udder was filled with mercury as far as the three way stop-cock; the remaining distance was filled completely with boiling water, driving out all the air, and when driven out, all of the apertures of the milking-tube were closed by means of a sliding rubber valve. When ready for drawing the milk, the tip of the milking-tube was carefully inserted into the milk duct of the udder, and as the teat was pushed on, the rubber valve over the apertures in the tube was pushed down, thus allowing the milking-tube to be inserted without the escape or the entrance of any air. When all was in readiness the three way stop-cock was so turned as to allow the water to run out and the milk take its place; then the three-way stop-cock was again so turned that the milk would run in the direction of the container. The stop-cock of the side arm of the container was also turned on. This made, therefore, a direct connection from the udder to the container of the milk without the presence of any air whatever. To draw the milk the stop-cock of the lower arm of the container was turned so as to allow the mercury to escape, drawing the milk from the udder as normally as it was possible. With the running out of the mercury the milk entered and filled all parts of the container, so that when the mercury had all escaped and the lower stop-cock turned off, the receptacle was completely filled without even traces of air.

As soon as the container was filled with milk direct from the udder it was taken to the laboratory and immediately connected by means of the mercury valve of the top arm, to a modified Hempel pipette specially made for the purpose in which all rubber connections were excluded. The bulb of the pipette, the nearest the milk container when connected, was so made as to be above the second bulb, next to the Geissler pump. From the very top part of the bulb next to the container extended upright 5 cm. in length, a capillary tube; this then turned to a horizontal position for 10 cm.; finally turned downward in a vertical direction

and connected with the mercury valve of the container, previously described, by means of its female portion. In the middle of the horizontal portion of this capillary connecting tube was another three way stop-cock which facilitated the filling of the tube with mercury. Therefore the container could be directly connected with the pipette through the capillary tube by means of the mercury connection. Before beginning to pump the gas off, the upper bulb of the pipette and the capillary arm were filled completely with dry mercury by means of the three way stop-cocks. This was done so effectually that no traces of air were present. A. Geissler's pump was then attached to the upper stem of the lower bulb of the pipette, the air was removed, thus creating considerable pressure upon the mercury in the pipette. The stop-cock in the upper arm of the container was then turned so that the gas from the milk could escape and be drawn over into the upper bulb of the pipette and thus collected there. When the operation of pumping was completed the stop-cock in the upper arm of the container was again turned off. To this three way stop-cock was attached a Hempel burette, filled with mercury, by means of pressure tubing also filled with mercury. (It is understood that all rubber tubing connections throughout the entire experiment were further safeguarded by wiring.)

As soon as the pressure of the pump was released and reduced to normal conditions all of the gas was drawn over through the capillary tube and three way stop-cock into the burette where it was held for analysis. In carrying out the analyses of the gases we used Hempel's methods entirely, employing his pipette and White's[1]) burette corrected for temperature and barometric pressure. The carbonic acid gas was absorbed by means of potassium hydroxide, the oxygen was absorbed by means of alkaline pyrogallate and what remained was considered as residual gas. In the case of previous experimenters, the residual gas has been called nitrogen, to me a very presumptious proceeding, inasmuch as there is apparently much concealed in the residual gas concerning which we know little. In the lower curves of the pipette a little mercury was placed to act as valves to prevent diffusion. The three way stop-cock of White's burette enabled us to fill the connecting tubes between the pipette and burette completely. By this means all errors were reduced to a minimum.

The milk used in these experiments came from one cow, and usually from a single quarter. In none of these analyses did the milk come from more than a single quarter, since a quarter contained sufficient milk to fill the container and the possibility of air entering in changing from one quarter to another was thus avoided. It was found in several cases, too, in our work that should the milk become exhausted in a single quarter the tissues closed over the apertures of the milking-tube and prevented the further flow of the mercury; this further demonstrates that no

1) Journ. of the Am. Chem. Society. Vol. XXII. 1900. No. 6.

air could possibly enter by means of the apertures in the milking-tube. The whole apparatus including tubes, container, connections, and pipette was severely tested by several preliminary trials, from the starting of the milk from the udder through to the securing of the gas from the milk by pumping. Everything had been verified by these preliminary trials. (In all of our gas analyses the barometric pressure has been reduced to 760 mm. at 0° C., unless otherwise stated. A uniform pressure during pumping was maintained by a large galvanized iron tank filled with water in which the entire apparatus was placed.)

IV. Analyses of the Gas-Content of Milk before Exposure to Air.

The following six samples were run through and the gases analyzed with these results: —

Table I.

Sample	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
Date	Dec. 9th.	Dec. 11th.	Dec. 13th.	Dec. 14th.	Dec. 16th.	Dec. 17th.
Began milking at	8:20 a. m.	8:05 a. m.	8:20 a. m.	8:20 a. m.	8:15 a. m.	9:00 a. m.
Finished milking at	8:35 „	8:20 „	8:35 „	8:35 „	8:30 „	9:15 „
Began pumping at	8:55 „	8:40 „	8:55 „	9:00 „	8:45 „	9:40 „
Completed pumping at	9:55 „	9:40 „	9:55 „	10:00 „	9:45 „	10:40 „
Temperature of water in tank	38°	38,5°	37,5°	37,5°	37,5°	37,5°
Barometric pressure in mm.	688,63	695,265	682,937	686,93	694,937	690,937
Total gas obtained in c.cm.	6,16	4,4	4,218	5,342	5,592	4,256
Free carbon dioxide in c.cm.	4,96	3,44	3,447	4,3788	4,4825	3,667
Per cent. of carbon dioxide	80,58	78,35	81,73	81,97	80,16	86,19
Oxygen in c.cm.	0,117	0,135	0,1134	0,1143	0,0894	0,09
Per cent. of oxygen	2,88	3,09	2,69	2,14	1,6	2,12
Residual gas in c.cm.	1,02	0,816	0,658	0,8489	1,02	0,499
Per cent. of residual gas	16,54	18,56	18,27	15,89	18,24	11,71

The above six analyses furnish an average which is lower than that of Pflüger's, but this does not appear to detract from the value of the work of either after considering the possible variation occuring in the gas-content of milk from the same quarter of the cow. The amount of carbon dioxide obtained in the above analyses is in percentages, 80,58, 78,35, 81,73, 81,97, 80,16, and 86,19.

The averages of theses percentages is 81,49 $^2/_3$ per cent.

Pflüger obtained in his analyses 90,45 per cent. and 87,16 per cent.

The average of Pflüger's analyses therefore would be 88,80 per cent.

Considering the extremes of the six analyses there exists a

difference of 7,84 per cent. In Pflüger's the difference is 3,28 per cent. Between the two sets of averages, Pflüger's and ours, there is 7,30 per cent difference. Thus the possible variation in six analyses is greater than the difference between the averages of the two sets of analyses. The uniformity obtained in the six analyses also indicates that there can be no serious discrepancies in the analytical work, and it is difficult to say how much variation Pflüger might have had, had he made six analyses instead of two; furthermore, there is probably as much variation in the gas-content of milk as there is in other constituents. This fact was brought out plainly in some of the preliminary tests which are not cited here because those tests served only to pave the way for these six analyses and to develop those points necessary for recording the systematic work. Pflüger further does not state the temperature at which the gas was pumped from the milk nor does he enter specifically into a discussion of the influences which might alter further the gas-content of milk.

He obtained a larger amount of gas from milk than we obtained. This alone may answer why more carbon dioxide was secured by him. In two of our preliminary tests we first pumped off the gas, which came with ease, collected it in a burette, and then began pumping again, when we obtained a larger percentage of carbon dioxide than we did in the first pumping; however we did not carry out this work repeatedly, therefore can not state with any degree of assurance that this will always follow. It was not our purpose to ascertain the amount of gas that may be obtained from milk, but rather to secure a qualitative estimation of any changes that may occur in milk under aëration.

To do this it became necessary to hold to the same time, temperature and pressure, as far as possible, while pumping the gas from the milk. After trying the temperature of the room in several tests, about 22° centigrade, the conclusion was reached that the yield in amount of gas in milk was reduced. This amount was greater than we could account for by the contraction of the gas due to a change in temperature; neither did we desire to heat the milk lest some change might occur. That heat increases the gas liberated from a definite amount of milk is proved by Thörner's[1]) work where large amounts of gas were obtained from comparatively small amounts of milk. Taking milk at $37\,^1/_2\,^0$ C. or thereabouts it is believed that the milk does not undergo any change and that the greatest amount of gas could be obtained without altering the milk.

Furthermore it was also found necessary, after the preliminary tests, to limit the time of pumping because at no time was the milk totally exhausted, although most of the gas passed off within fifteen minutes after pumping began. The time limitation was fixed arbitrarily at one hour, believing that this limitation practically precluded the possibility of fermentation.

1) Chemiker-Zeitung. Bd. XVIII. 1894.

A pressure of 756 mm. to 759 mm. was recorded upon the manometer of the Geissler pump and from these have been deducted the errors in measurement resulting from vapor tension, yielding the results recorded. With three constants, which influence the amount of gas under our control, we were able to obtain fairly uniform results. There was, however, an error creeping in occasionally due to the presence of obstructions in the upright capillary tube connecting with the container. In this respect the apparatus designed is not as perfect as it should be, for mercury would sometimes fail to be drawn over from the capillary tube extending from the container to the horizontal portion of the arm, and thus interfere with the suction power of the pump upon the milk. I have given in two or three instances the analyses of very small amounts of gas; the explanation for these small amounts will be found in such obstructions. Whenever they occurred they could easily be detected while pumping.

Pflüger in his studies has made reference to the possible atmospheric source of some oxygen and nitrogen as found in milk and places himself against such a view. Both in his work and in our analyses this relationship is not established, therefore his view are upheld. The percentages of oxygen fall far below that of the air and even below the solubility of oxygen in water. The percentages of oxygen obtained from unexposed milk are

2,88, 3,09, 2,69, 2,14, 1,6, 2,12.

These figures represent mere traces of oxygen when viewed in the light of percentage of gas volume obtained instead of milk volume, which has not been employed in the estimation of any of our percentages. The following are the percentages of oxygen in its relation to total gas less carbon dioxide, however, were these figures the solubilities of these two gases, oxygen and nitrogen only, as in air, the oxygen should exist in the ratio of 33,9 : 66,1 to nitrogen according to Bunsen.

10,29, 14,09, 14,70, 11,86, 8,06, 15,26.

There is only one possible way of explaining the presence of oxygen in the gas-content of milk. It is barely possible that some oxygen may be accounted for by its creeping in through its adherence to the mercury and walls of the container; however, when an attempt is made to secure it in pumping in the absence of milk not an appreciable trace of gas can be obtained. This ought to demonstrate that the oxygen is inherent in the milk.

It may be also well worth considering the fact that the cow used for this purpose received very little exercise; she was confined to her stall most of the time. There may be some relation existing between the carbon dioxide and the oxygen of milk due to the amount of exercise of the animal caused by a reduction in the metabolism of the body cells. I call attention to this as a possible answer to the variation in the gas constituents of the milk.

After ascertaining the gas-content of milk before it has been exposed to the air, it became necessary, in order to fully understand the changes in the gas-content of milk, to next study the gases of milk immediately after milking.

V. Analyses of the Gas-Content of Milk directly after Milking.

The milk was secured in the ordinary way by milking into an open receptacle, thus allowing the milk to become exposed to the air in an open stream from the milk-duct to the receptacle; further, there was the churning action taking place as the streams impinged against the surface, which also exerts a marked influence in bringing the air in contact with the milk, because by this method much air is carried down into the milk. It has been found that it takes a few minutes after milking before the perceptible air bubbles rise to the surface. The surface of the milk in the receptacle also offered an opportunity for a considerable inter-change of gases between the milk and the air.

Immediately after milking the milk was taken to the laboratory and placed in the same container as in the previous analyses, and the gas was obtained in identically the same manner.

Thörner[1]) has made some analyses of the gas obtained from milk immediately after milking, but he employed heat to drive oft the gases. The amount of gas which he obtained was much larger than in our case and his results were usually higher in carbonic acid gas, possibly due to his methods. I take the liberty to quote several of his analyses of milk directly after milking: —

Amt. of gas per L.	Per cent. of Carbon dioxide	Per cent. of Oxygen	Per cent. of Nitrogen	
57,0 c.cm.	61,6	6,4	32,0	Open to air.
85,6 „	73,0	5,2	21,8	„
84,5 „	72,8	4,4	22,8	„
68,2 „	70,7	4,8	24,5	„
78,6 „	71,7	4,7	23,6	„
64,0 „	65,6	7,6	27,1	„
63,0 „	65,0	10,0	25,0	„
57,0 „	55,5	11,1	33,4	„
80,0 „	72,8	4,4	22,8	„
68,0 „	70,7	4,8	24,5	„
78,6 „	71,7	4,7	23,6	„

In considering the work of Thörner it is necessary to have in mind the method employed by him in securing gas from milk. Inasmuch as we had reached the conclusion that a high temperature increased the amount of gas obtained from a definite quantity of milk and that probably the carbon dioxide is with difficulty released upon pumping, issue must be taken with the results of Thörner. Further it has been demonstrated that other gases as hydrogen sulphide may be generated by boiling milk.

The high percentages of carbon dioxide indicates that heat may have facilitated the dissociation of carbon dioxide whether in solution or loose combination to that extent that a higher percentage of

1) loc. cit.

carbon dioxide and a lower percentage of oxygen were the results. It is well known carbon dioxide is with difficulty liberated in the presence of certain salts as $CaCO_3$, Na_2HPO_4, and others (Setchenow). At any rate as our tables will show, Thörner's average of percentages differs materially from ours, although it falls considerably below milk which has not been exposed to the air.

Blyth[1]) in his analysis of the gas-content of milk immediately after milking obtained a very low amount of carbon dioxide. His analysis is: —

	c.cm.	per cent.
Carbon dioxide	0,06	3,27
Nitrogen	1,42	77,60
Oxygen	0,35	19,13

The results obtained by him in no way can be reconciled with the results of Thörner or with the results which we secured. He has shown the possibility of the development of carbon dioxide after fermentation has begun, but it appears incredible that he should have gotten such a low percentage of carbon dioxide from fresh milk.

Our analyses are as follows: —

Table II.

Sample	I	II	III	IV	V	VI
Date	Nov. 29th, a. m.	Nov. 30th, a. m.	Dec. 2nd, a. m.	Dec. 4th, a. m.	Dec. 6th, a. m.	Dec. 7th, a. m.
Began milking at	7:35	7:25	7:30	7:35	7:35	7:45
Completed milking at	7:45	7:35	7:40	7:45	7:45	7:55
Began pumping at	9:00	8:35	8:30	9:00	8:40	8:50
Completed pumping at	10:15	9:35	9:30	10:15	9:40	9:50
Temperature when pumping	37,6°	38°	38°	38°	37,8°	37,5°
Barometric pressure in mm.	688,6	690,63	690,63	696,6	698,6	692,84
Total gas in c.cm.	6,62	6,84	5,96	2,70	6,64	5,5
Carbon dioxide in c.cm.	3,82	3,78	3,47	1,78	4,35	2,93
Per cent. of carbon dioxide	59,31	55,33	58,27	66,1	65,65	53,28
Oxygen in c.cm.	0,91	0,86	0,84	0,32	0,727	0,85
Per cent. oxygen	13,79	12,66	14,17	11,89	10,96	15,57
Residual gas in c.cm.	1,78	2,19	1,64	0,59	1,55	1,71
Per cent. residual gas.	26,9	32,01	27,56	22,01	23,39	31,15

In the study of the above tables it will be found that the percentage of the gases in milk have undergone a change in the milking process itself. The carbon dioxide has been reduced and the oxygen increased. The six analyses of the gas-content of milk before exposure to the air give the following percentages in carbon dioxide:

80,58, 78,35, 81,73, 81,97, 80,16 and 86,19.

The average of the six analyses is 81,49 $^2/_3$ per cent.

1) Foods, Their Composition and Analysis, 4. ed. p. 251.

In the case of carbon dioxide immediately after milking, six analyses give in percentages

59,31, 55,33, 58,27, 66,1, 65,65, and 53,28.

The average of these is 59,63 $^2/_3$ per cent.

The oxygen content has also undergone a marked change by the process of milking as compared with non-exposure to the air. We obtained as the oxygen content of milk in six analyses,

2,88, 3,09, 2,69, 2,14, 1,6, and 2,12 per cent.

The average of these is 2,42 per cent.

After the milk had been exposed to the air by the process of milking there was obtained,

13,79, 12,66, 14,17, 11,89, 10,96, and 15,57.

The average of these is 13,17 $^2/_3$ per cent. There has therefore been an increase in the oxygen content of milk after milking over the oxygen content of unexposed milk of 10,75 $^2/_3$ per cent. Further the percentages of residual gas drawn from the udder without exposure to the air is

16,54, 18,56, 18,27, 15,89 18,24, and 11,71.

The averages of these is 16,53 $^1/_2$ per cent. After the milking process the percentages of residual gas are in six analyses,

26,9, 32,01, 27,56, 22,01, 23,39, and 31,15.

The average of these is 27,17 per cent., a gain of 10,63 $^1/_2$ per cent. in the residual gas over the residual gas in unexposed milk. There was a gain of oxygen and residual gas of 10,75 $^2/_3$ per cent. and 10,63 $^1/_2$ per cent. respectively, or in all 21,39 $^1/_6$ per cent. There was a loss of 21,84 per cent. in the case of carbon dioxide. Therefore, we find that these averages practically offset each other.

The percentages of oxygen to total gas less carbon dioxide in milk unexposed to the air were in six analyses,

10,29, 14,09, 14,70, 11,86, 8,06, and 15,26 per cent.

After milking the percentages of oxygen to total gas less carbon dioxide are, in six analyses,

33,83, 28,19, 33,88, 25,16, 32,16, and 31,96 per cent.

From an examination of these two sets of results assuming that we are considering the relation of oxygen to nitrogen as they exist in the air it will at once be noticed that there has been a decided change in the relationship of oxygen to total gas less carbon dioxide due to change of gases between the air and milk during the process of milking; further these two sets indicate that there is a chemical change going on rather than a mere mixing of air and milk, because we should expect that were it a mere solubility of oxygen and residual gas (perhaps nitrogen) the relationship would be as 33,9 to 66,1 as has been stated.

(Fortsetzung folgt.)

Referate.

Van Hall, C. J. J., Bijdragen tot de kennis der bakterieele plantenziekten. [Academisch Proefschrift der verkrijging van den Graad van Doktor in de Plant- en Dierkunde aan de Universiteit van Amsterdam.] 198 pp. Amsterdam 1902.

Im ersten Teil kennzeichnet Verf. den heutigen Stand unserer Kenntnis der bakteriellen Pflanzenkrankheiten. Von Bakterienkrankheiten, bei denen Bakterien als Ursache sicher erkannt worden sind, beschreibt er die folgenden:

Schwarznervigkeit des Kohls und verwandter Coniferen durch Pseudomonas campestris Smith.

Solaneenkrankheit durch Bacillus Solanacearum Smith.

Verwelken („wilt-disease") der Cucurbitaceen durch Bacillus tracheiphilus Smith.

Hyacinthenkrankheit durch Pseudomonas Hyacinthi (Wakker) Smith.

Gummose der Zuckerrüben durch Bacillus Betae Busse.

Maiskrankheit („cornwilt") durch Pseudomonas Stewarti Smith.

„Fire blight" („twig-blight", „anthrax") des Birnbaums, Apfelbaums etc. durch Bacillus amylovorus (Burrill) De Toni.

Fliederkrankheit durch Pseudomonas Syringae n. sp.

Knotenkrankheit der Olivenbäume durch Bacillus Oleae (Arcang.) Trev. (= Bacillus Oleae tuberculosis Savastano).

Fäulnis der Kartoffeln durch Bacillus solaniperda Kramer, Bacillus Solanacearum Sm., Bacillus atrosepticus n. sp. etc.

Mohrrübenfäulnis durch Bacillus carotovorus Jones.

Kohlrabifäulnis durch Pseudomonas destructans Potter.

Schwertlilienkrankheit durch Pseudomonas Iridis n. sp. und B. omnivorus n. sp.

Es folgt sodann eine Uebersicht und Beschreibung der unvollständig bekannten Krankheiten, die der Wirkung von Bakterien zugeschrieben worden sind. Es sind dies:

Der Stengelrotz oder die Schwarzbeinigkeit der Kartoffel (Bacillus atrosepticus n. sp.), Fleckenkrankheit der Maulbeerbäume (Bacterium Mori Boyer et Lambert = (?) Bacillus Cubonianus Macchiati.

„Cornblight" beim Mais (Bacillus Zeae Burrill).

Krankheit des Knäuelgrases (Pseudomonas?).

Krankheit der Aleppokiefern (Bacterium Pini Vuillemin).

Levkojenkrankheit, „la jaunisse" der Zuckerrüben, „fireblight" des Pflaumenbaumes, Selleriebacteriose (Bacillus Apii [Brizi] Mig.).

Stengelgangrän der Kartoffeln etc. (Bacillus caulivorus Pr. et Del.).

Blattkrankheit von Oncidium (Bacterium Oncidii Peglion).

Hanfbakteriose, Wurzelfäule der Scorzoneren.

Fäulnis der Baumwollenfrüchte (Bacillus gossypina Stedmann).

Fruchtfäule der Tomaten, Zwiebelfäule, Hiersebrand (Bacillus Sorghi Burrill).

Fleckenkrankheit der Wallnüsse (Pseudomonas Juglandis Pierce).

Weintraubenbakteriose (Bacillus Ampelopsorae Trev.), „maladie d'oléron", Gummose und „mal nero" des Weins (Bacillus gummis Comes).

Kartoffelschorf; Lupinenbakteriose (Bacillus elegans Hegyi).

Korrosion und Rotfärbung der Weizenkörner (Micrococcus Tritici Prill.).

„Ziekte der aardbeien", „Ziekte van de sla", Ziekte der bessebоomen", Gummikrankheit des Zuckerrohres (Bacillus vascularum Cobb.).

Eschenkrebs (nach Noack), Schleimflüsse der Laubbäume.

Mit Unrecht wurden der Wirkung der Bakterien zugeschrieben: Die Nelkenkrankheit, nach Arthur und Bolley durch Bacterium Dianthi verursacht, nach neueren Untersuchungen jedoch von Aphiden und Thrips herrührend, die Mosaikkrankheit des Tabaks und die Serehkrankheit des Zuckerrohrs.

Im zweiten Teil folgen die eigenen Untersuchungen des Verf.'s. Verf. zeigt hier zunächst, daß die beiden Heubakterien Bacillus subtilis (Ehrenberg) Cohn und B. vulgatus (Flügge) Mig. bei höherer Temperatur für viele Pflanzen stark toxische Eigenschaften besitzen und unter besonderen Verhältnissen ihre saprophytische Lebensweise mit einer parasitischen vertauschen; sie treten im Laboratorium auf bei Infektion von Pflanzenteilen mit Erde.

Verf. behandelt zunächst den Bacillus subtilis als Parasiten, sein Auftreten, seine Varietäten, berichtet über Infektionsproben damit, über den Verlauf des Krankheitsprozesses und über ein von ihm gebildetes Toxin, in gleicher Weise erörtert er den B. vulgatus. Die virulenten Eigenschaften des B. subtilis treten erst über 23°, die des B. vulgatus über 30° zu Tage. Danach ist es sehr unwahrscheinlich, daß diese beiden Bakterien in Feld und Garten als Pflanzenparasiten bei uns auftreten, während dies in wärmeren Klimaten wohl der Fall sein könnte.

Bei Iris florentina und I. germanica werden eine Wurzelfäule und ihre Urheber Pseudomonas Iridis n. sp. und Bacillus omnivorus n. sp. beschrieben, sodann berichtet Verf. über Infektionsversuche mit letzteren, die durch sie gebildeten Toxine und die pathologisch-anatomischen Befunde an den kranken Pflanzen.

Ebenso wird eine Stengelfäule oder Schwarzbeinigkeit der Kartoffelpflanze und ihr Urheber Bacillus atrosepticus, die Fliederseuche und ihr Urheber behandelt. Das letzte Kapitel enthält eine eingehende Beschreibung der letzten 4 Bakterienarten in eingehender streng methodischer Weise. Ludwig (Greiz).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Foot, K. and **Strobell, E. Ch.**, A new method of focussing in photomicrography. (Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XVIII. 1902. Heft 4. p. 421—426.)

Michaelis, L., Einführung in die Farbenstoffchemie f. Histologen. VIII, 156 p. gr. 8^0. Berlin (S. Karger) 1902. 4 M.

Poll, H., Eine neue elektrische Mikroskopierlampe. (Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XVIII. 1902. Heft 4. p. 413—417.)

Smith, A. J., Suggestions for certain cheap and convenient forms of apparatus for class work in the bacteriological laboratory. (Philad. med. journ. 1902. No. 24. p. 1060—1064.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Cockerell, T. D. A., Some gall-insects. (Canad. entomol. 1902. No. 7. p. 183—184.)

Cohn, E., Untersuchungen über eine neue tierpathogene Hefeart (Hefe Klein). (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXI. Orig. 1902. No. 15. p. 739—748.)

Giard, A., Sur l'éthologie des larves de Sciara medullaris Gd. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 21. p. 1179—1185.)

Hausmann, W., Zur Kenntnis des Abrins. (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. hrsgeg. v. F. Hofmeister. Bd. II. 1902. Heft 1/3. p. 134—142.)

Hennings, P., Einige neue Pilze aus dem Berliner botan. Garten. (Hedwigia. 1902. Heft 3. p. 135—139.)

Krause, P., Ueber durch Pressung gewonnenen Zellsaft des Bacillus pyocyaneus nebst einer kurzen Mitteilung über die Einwirkung des Druckes auf Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXI. Orig. 1902. No. 14. p. 673—678.)

Lühe, M., Bemerkungen über die Cestoden aus Centrolophus pompilius. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXI. Orig. 1902. No. 13. p. 629—637.)

Mohr, O., Zur Bestimmung der diastatischen Kraft nach Lintner. (Wchschr. f. Brauerei. 1902. No. 23. p. 313.)

Olschanetzky, Ueber ein neues alkohol- und säurefestes Stäbchen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXII. Orig. 1902. No. 1. p. 16—21.)

Stiles, Ch. W. and **Hassall, A.**, Notes on parasites, 58—62. (U. S. Departm. of Agricult. Bur. of anim. ind. Bullet. No. 35. 1902. p. 19—24.)

Weed, C. M., Insect record for 1901. (Hampshire College Agricult. experim. stat. Durham Bullet. No. 90. March 1902. p. 31—44.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Bonne, G., Zur Bedeutung der Flußufer für die Selbstreinigungskraft der Flüsse. Gesundheit. 1902. No. 11. p. 260—263.)

Boyce, R., Note upon fungus deposits in unfiltered water mains. (Thompson Yates laborat. rep. Vol. IV. 1902. pt. 2. p. 409—414.)

Busquet, Contribution à la recherche du bacille d'Eberth dans les eaux. (Annal. d'hygiène publ. etc. T. XLVIII. 1902. No. 1. p. 14—19.)

Engels, Das Schumburg'sche Verfahren der Trinkwasserreinigung mittels Brom. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXI. Orig. 1902. No. 13. p. 651—670).

Irons, E. E., Neutral red in the examination of water. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 376—377.)

Krull, F., Wassersterilisierung durch ozonisierte Luft nach Abraham und Marmier. (Schilling's Journ. f. Gasbeleucht. 1901. p. 102—104.)

Weston, R. S. and **Kendall, A. J.**, Some common bacteria in American streams, including some new species isolated at New Orleans, Louisiana. (Repr. f. the Proceed. of the 29. ann. meet. of the Amer. publ. health Assoc. Columbus.) 1902. 8 p.

Winslow, C. E. A., The distribution of B. coli communis in natural waters. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 372.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Galeotti, G. u. **Zardo, E.**, Ueber einen aus dem „Murex bradatus" isolierten pathogenen Mikroorganismus. Beitrag zur Kenntnis der Nahrungsinfektionen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXI. Orig. 1902. No. 13. p. 593—614.)

Hauman, L., Etude microbiologique du rouissage aérobie du lin. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 20. p. 1163—1166.)

Fleisch.

Feldmann, G., Ueber die Anforderungen, welche vom gesundheitlichen Standpunkte aus an ein öffentliches Schlachthaus zu stellen sind. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. ö. Gesundheitspflege. 1902. Heft 3. p. 454—474.)

Hamard, M. A. J., Essai sur la viande et les conserves de viande. (Thèse 1902. Paris.)

Schmidt-Nielsen, S., Ueber den Reifungsvorgang beim Pökeln von Häringen. (Eine chemische und mikrobiologische Nahrungsmittelstudie.) 52 p. gr. 8⁰. 1902. Trondhjem. (Kgl. Norske vidensk. selsk. skrift. 1901. No. 5).

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Fassbinder, J., Die Erbsenblattlaus in Galizien und der Bukowina. (Wien. landwirtsch. Ztg. 1902. No. 46. p. 398.)

Friend, H., Notes on the Aster worm (Enchytraeus parvulus). (Gard. chron. Vol. XXXI. 1902. p. 202—203.)

Hertzog, A., Aescher und Blattfallkrankheit. (Dtsche landwirtsch. Wochschr. 1902. No. 24. p. 117—118.)

Kaserer, H., Bericht über die im Sommer 1901 angestellten Versuche zur Bekämpfung der Pilzkrankheiten der Rebe. (Weinlaube. 1902. No. 25. p. 290—291.)

Mangin, L. et **Viala, P.**, L'acarien des racines de la vigne (Coepophagus echinopus). (Rev. de viticult. 1902. No. 435. p. 425—432.)

Smith, E. F., The destruction of cell walls by bacteria. (Science 1902. N. S. Vol. XV. p. 405.)

Webber, H. J. and **Orton, W. A.**, A cowpea resistant to root-knot Heterodera radicicola. (U. S. Departm. of agricult. Bur. of plant industry. (Bullet. 1902. No. 17. p. 23—36.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 1. Oktober 1902. **No. 11/12.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Ueber Gärungen.

Von Privatdocent Dr. **Hugo Fischer**, Bonn.

(Schluß.)

Die Gärung geht stets innerhalb der Zelle vor sich. Dieser Satz ist wohl nur einmal bestritten worden: Nägeli war durch unrichtige Deutung der „Selbstgärung“ von Früchten, und weil er von der diosmotischen Leistungsfähigkeit der Zellmembranen eine zu geringe Meinung hatte, zu jener sonderbaren Hypothese gelangt, die Spaltung des Zuckermoleküls in die Umgebung der Zelle

zu verlegen. Welch ungeheurer Energieverlust müßte damit verbunden sein! Buchner's Zymase hat ja gerade die Eigenschaft, von der lebenden Zelle sich niemals zu trennen und selbst aus der getöteten nicht herauszudiffundieren; Substanzen aber, die außerhalb der Zelle zu wirken bestimmt sind, treten auch aus derselben ständig heraus, wie die verschiedenen verdauenden Enzyme und die der Stärkekörner, Zellwände, Proteïne oder dergleichen angreifenden Mikroorganismen [1]).

Die Produkte der alkoholischen Gärung sind von dem „Gärmaterial", dem Zucker, wesentlich verschieden und in keiner Form in ihm enthalten. Im Zuckermolekül steht je ein O-Atom mit einem C-Atom in Bindung, demgegenüber enthält der Alkohol ein O weniger, die Kohlensäure ein O mehr; es hat, worauf wir noch zurückkommen werden, eine wesentliche Umlagerung der Atome, also Bildung ganz neuer chemischer Körper, stattgefunden. Dasselbe gilt für die Milchsäure- und Buttersäuregärung. Ganz anders liegt die Sache bei der Invertierung der Saccharose, Maltose und Lactose, bei der Hydrolysierung der Amylose und der verschiedenen Cellulosen; diese sind Kohlenhydrate und geben auch wiederum Kohlenhydrate als Spaltungsprodukte — dieselben, die auch beim Kochen mit verdünnten Säuren entstehen. Aehnliches gilt von den Spaltungen der Eiweißstoffe, die indessen viel verwickelterer und mannigfaltigerer Art, auch erst sehr lückenhaft bekannt sind. Es wird zur Zeit sehr schwer zu entscheiden sein, ob wir nach unserer „bioënergenetischen" Anschauung überhaupt irgend welche bei der Eiweißzersetzung auftretende Erscheinungen für echte Gärungen erklären können. Die meisten sind vorbereitende Spaltungen, deren Produkte zu weiterer Verwendung — Aufbau, Veratmung oder Vergärung — dienen sollen, wobei denn auch unnütze oder gar schädliche Stoffe als unvermeidlicher Abfall mit unterlaufen können. Ob bei solchen Umsetzungen auch vitale Energie gewonnen wird, muß dahingestellt bleiben; von vornherein ausgeschlossen ist das für alle unlöslichen Eiweißstoffe, die nur durch austretende Enzyme zersetzt werden können, damit ihre löslichen Zersetzungsprodukte in die Zellen hineinzudiffundieren vermögen. Diese Spaltungen, wie die Invertierung und Hydrolysierung [2]) der höheren Kohlenhydrate und die Spaltungen der Fette haben viel mehr Gemeinsames mit der Verdauuug als mit den eigentlichen Gärungen und sind daher von diesen scharf zu trennen; ganz besonders da, wo die Spaltungsprodukte dazu dienen, vergoren zu werden, wo also zwei Prozesse aufeinander folgen, die bei ungenügender

1) Vergl. Pfeffer, Beiträge zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge in lebenden Zellen (Abhandl. der mathemat.-physischen Klasse der königl. sächs. Akademie d. Wissensch. Bd. XV. Leipzig 1889. p. 518): „Demgemäß ist extracelluläre Oxydation, falls sie unter bestimmten Verhältnissen eintreten sollte, von dem Atmungsvorgang im Protoplasmakörper wohl zu unterscheiden".

2) Die beiden Worte bezeichnen, streng genommen, den gleichen Begriff, eines von ihnen könnte also getrost wegfallen. Es dürfte sich empfehlen, für die rein chemische Zerlegung die Bezeichnung Hydrolyse, für die durch Organismen bewirkte den Namen Invertierung anzunehmen.

Aufmerksamkeit als ein Prozeß, als die Vergärung des Ausgangsmateriales, aufgefaßt werden könnten — was ein bedenklicher Irrtum wäre; vergl., was S. 356 No. 10 d. Bl. über die „Cellulosegärung" gesagt wurde. Korrekter wäre es, diese etwa als „Invertierung der Cellulose mit nachfolgender Vergärung" zu bezeichnen; der Ausdruck ist ja leider bedeutend länger, dafür aber logischer. — Die große Uebereinstimmung zwischen solchen vorbereitenden Spaltungen und den Erscheinungen der Verdauung zeigt sich auch darin, daß dieselben oder ganz ähnliche Enzyme einerseits von den Mikroorganismen, andererseits im Verdauungssystem der Tiere ausgeschieden werden.

Die Produkte der Gärung, in unserem typischen Falle also Kohlensäure und Alkohol, sind, im Gegensatz zu den Erzeugnissen verdauender Enzyme, für den vergärenden Organismus vollständig unbrauchbar und bei größerer Anhäufung direkt schädlich bezw. tödlich. Das gleiche gilt unter anderen von der Milchsäure, Buttersäure, Valeriansäure, Essigsäure (von dieser nur teilweise, soweit sie als eigentliches, anaërobes Gärungsprodukt neben Buttersäure entsteht; vergl. unten), von Methan, freiem Wasserstoff, Ammoniak, Stickstoff und Schwefelwasserstoff. Das Auftreten der letzteren drei Stoffe braucht nach dem, was soeben gesagt wurde, nicht mit Notwendigkeit auf eine echte Gärung in unserem Sinne hinzuweisen; sie können vielleicht auch Nebenprodukte bei einer jener vorbereitenden Spaltungen sein, oder direkte Sekrete eines Stoffwechsels, der ebenfalls mit der Gärung nichts gemeinsam hat. — Von den mannigfaltigen Produkten der Eiweißzersetzung hat es den Anschein, als ob vielleicht einige derselben ihre Entstehung einer echten Gärung verdanken und trotzdem noch weiter vergoren werden könnten, wie dies ja z. B. auch von der Milchsäure gilt; für letztere ist immerhin zu betonen, daß die Organismen, die Milchsäure vergären, andere sind als die, die durch Gärung Milchsäure erzeugen, und es wird an Reinkulturen zu untersuchen sein, inwieweit es sich bei den Erregern der Eiweißfäulnis ebenso verhält.

Die letzte, aber wesentlichste unserer Haupteigenschaften der alkoholischen Gärung war der Gewinn vitaler Energie. Damit rückt die Gärung in die gleiche Kategorie ein mit der Atmung; auch sie ist eine organische Verbrennung, sie erzeugt neue Bindungen von Sauerstoff an Kohlenstoff, und hierin liegt eben ihre eigentliche Bedeutung, der Grundzug ihres Wesens — eine Erkenntnis, die freilich schon recht alt ist, denn ihre eingehendere Begründung datiert von 1875, gegeben ist sie von Hoppe-Seyler (Pflüger's Archiv. Bd. XII).

Eigentümlich ist, daß Oppenheimer (l. c.), obwohl er Hoppe-Seyler gerechte Würdigung widerfahren läßt, doch keine genügend scharfe Trennung zwischen der alkoholischen Gärung der Monosaccharide und der Invertierung der Disaccharide durchführt; beide sind ihm „exothermale Prozesse". Nun enthält aber 1 Mol. Saccharose + 1 Mol. Wasser genau so viel Bindungen von C an O, C an H, O an H und C an C, als 1 Mol. Glukose + 1 Mol.

Fruktose, woher also das exothermale Moment kommen soll, bleibt unklar; ohne weiteres ergiebt es sich aber nach Hoppe-Seyler für die alkoholische Gärung: 1 Mol. Glukose oder Fruktose enthält sieben an O-Valenzen gebundene C-Valenzen, das Ergebnis der Gärung, 2 Mol. Alkohol + 2 Mol. Kohlensäure, weist deren zehn auf (vergl. Hoppe-Seyler a. a. O. und dessen Physiologische Chemie. Berlin 1877. p. 116 ff.). Ebenso erhält man für die „Buttersäuregleichung“:

$$CH_2OH.(CHOH)_4.COH = CH_3.CH_2.CH_2.COOH + 2\,CO_2 + 2\,H_2$$

elf C-O-Bindungen (immer auf einzelne Valenzen berechnet), für die Milchsäure:

$$CH_2OH.(CHOH)_4.COH = 2\,(CH_3.CHOH.COOH)$$

acht solcher Bindungen[1]). Der Vergleich der beiden letzten Zahlen zeigt, daß die Umwandlung der Milchsäure in Buttersäure ebenfalls einen Energiegewinn bedeutet. Dieses Moment ist aber ausgeschlossen bei der Hydrolyse der Di- und Polysaccharide, bei der Spaltung der meisten Eiweißstoffe und der Fette.

Die Fäulnis der Eiweißstoffe ist, wie gesagt, ein höchst zusammengesetzter Prozeß, und nach unserem derzeitigen Wissen fällt es schwer, unter der Menge der vorliegenden Einzelvorgänge zwischen den vorbereitenden Spaltungen einerseits und echten Vergärungen der Spaltungsprodukte andererseits zu unterscheiden. Erschwert wird die Unterscheidung dadurch, daß bei anaërober Gärung oft freier Wasserstoff entsteht, der in statu nascendi Umsetzungen hervorrufen kann, die mit den unter sich wieder verschiedenen Vorgängen, die von den Gärungsorganismen selbst hervorgerufen werden, sich zu dem höchst komplizierten Bilde der Fäulnis vereinigen. Daß Eiweißkörper direkt ohne vorbereitende Spaltung vergoren werden, ist unwahrscheinlich. Wir werden aber überall da, mit Vorbehalt freilich, auf eine echte Gärung schließen dürfen, wo — natürlich unter Ausschluß atmosphärischen Sauerstoffes — Kohlensäure oder organische Säuren auftreten, die in ihrer Carboxylgruppe das Merkmal echter Gärung, die O-Anreicherung eines C-Atoms, verraten. Es erübrigt, auf die Vorgänge der Fäulnis näher einzugehen, da sie eben noch im einzelnen zu wenig geklärt sind, um für unsere Betrachtung wesentliche Gesichtspunkte zu ergeben; bei späteren Forschungen wird, meine ich, besonderes Augenmerk darauf zu richten sein, wie sich jeder Einzelvorgang zu dem bioënergetischen Prinzip verhält.

Ein Punkt, auf den hier hinzuweisen ist, ist der, daß die

1) Oppenheimer spricht (a. a. O. p. 237) bezüglich der Milchsäure von „glatter Spaltung“ — ein Ausdruck, der mir nicht ganz berechtigt erscheint, da er die Wanderung der O-Atome nicht zum Ausdrucke bringt. Daß 1 Mol. der Hexose glatt in 2 Mol. Milchsäure aufgeht, ist ja richtig, aber von Spaltung würde man besser nur in den Fällen sprechen, wo ein Molekül in dieselben Atomgruppen zerfällt, die schon vorher in ihm enthalten waren, wie bei der Invertierung des Rohrzuckers oder dergl.; denn bei Spaltung denkt man unwillkürlich an eine dem Zerfall a priori vorgeschriebene Spaltungsrichtung.

vorbereitenden Spaltungen sich durch einfache Manipulationen im Laboratorium in ganz ähnlicher Weise herbeiführen lassen; für die Gärung des Alkohols, der Buttersäure u. s. w. ist das noch nicht gelungen. Ich lege zwar auf diesen Punkt keinen besonderen Wert und würde darin allein keinen grundsätzlichen Unterschied zwischen den beiderlei Vorgängen sehen; ich halte nicht alles, was wir noch nicht nachmachen können, für transcendent und überlasse gern einiges den Forschungen späterer Jahrhunderte, und vielleicht ist, während ich diese Zeilen schreibe, die künstliche Gärung bereits entdeckt. Sicherlich ist aber die Gärung (in dem gewählten engeren Sinne) mit jenen Spaltungen nicht wesensgleich, und wenn ihre künstliche Nachahmung gelingen sollte, so müßte es auf anderem Wege sein.

Wir werden also, wie bemerkt, den Gewinn von vitaler Energie als das wesentlichste Moment bei der Gärung anzusehen haben. Damit kommt denn der Satz Pasteur's vom „vivre sans air“ wieder zur Geltung, und mit Recht; an Pasteur's Anschauungen war ja manches irrig, aber daß die alkoholische Gärung in der Erzeugung vitaler Energie ohne Beihilfe atmosphärischen Sauerstoffes besteht, daran ist wohl nicht zu zweifeln.

Nägeli u. A. meinten, Pasteur widerlegt zu haben, indem sie wachwiesen, daß die Zerlegung von Zucker in Alkohol und Kohlensäure bei Luftzutritt ebensogut oder gar noch besser vor sich gehe wie bei Luftabschluß. Die objektive Würdigung der beobachteten Thatsachen lehrt uns aber: bei Luftzutritt geht die Gärung neben der Atmung einher, bei Luftabschluß ist sie allein noch möglich. Sie ist also für die Hefezellen nicht die einzige, auch nicht die wichtigste Quelle der Lebensenergie, aber eine Art von Notbehelf für den Fall, daß einmal durch Sauerstoffmangel die Hauptquelle, die Atmung, versagen könnte[1]). Längere vollständige Entziehung von Sauerstoff tötet bekanntlich die Hefezellen — genau so, wie intramolekuläre Atmung meist nur kurze Zeit ertragen wird. Die gelegentlich beobachtete Steigerung der Gärthätigkeit bei Luftzutritt erklärt sich wohl ungezwungen durch die raschere Vermehrung der Hefezellen. Dabei ist es ja allerdings auffallend, daß die Gärung auch gleichzeitig mit der Atmung vor sich geht, denn sie ist eine sehr verschwenderische Ausnützung des Materiales, das, veratmet, eine viel größere Energiemenge ergeben würde als vergoren; wir müssen uns indessen mit der Thatsache abfinden, daß die Hefezellen auch bei Sauerstoffzutritt Zymase bilden und damit Gärung erregen, gerade so, wie sie auf Glukoselösungen auch Invertase produzieren, obwohl doch gar keine Invertierung nötig ist. Daran mögen sich die Anhänger einer absoluten Zweckmäßigkeit stoßen; wer die Augen offen hält, der sieht und weiß, daß alle Zweckmäßigkeit nur relativ ist, daß überall in der Natur neben dem Zweckmäßigen auch minder Zweckmäßiges existiert. Nil admirari!

1) Vergl. die diesbezüglichen, durchaus zutreffenden Ausführungen bei Oppenheimer, Fermente. p. 283.

Als Quelle von Energie ist die Gärung doch ein vitaler Vorgang, wenn sie auch durch ein vom Protoplasma trennbares Enzym bewirkt wird. Sie wird freilich in dem Buchnerschen Versuch als solche Quelle nicht mehr in Betracht kommen, entfernt vergleichbar einem Dampfkessel, dem die Maschine fehlt, die er treiben sollte. Das ändert aber nichts an der normalen Funktion und physiologischen Bedeutung der Gärung. Freilich trifft man vielfach auf die entgegengesetzte Meinung; ich citiere hier nur Lafar (Technische Mykologie. Bd. II. Heft 1. Jena 1901. p. 432):

„Die intramolekulare Atmung, wo wie wir sie an den höheren Pflanzen und auch an den Mucoreen beobachteten, ist unbestritten ein intracellulärer Vorgang, eine Lebensäußerung der Zelle als solcher, also an den Zellkörper gebunden. Hingegen darf eine derartige örtliche Beschränkung nicht auch von der durch Hefen bewirkten Alkoholgärung behauptet werden, seitdem man weiß, daß diese nicht durch die Zelle als solche, sondern durch ein in ihr vorhandenes Enzym durchgeführt wird, welches auch außerhalb und ganz unabhängig von der Zelle, von der es hervorgebracht worden ist, seine Kraft zu bethätigen und also auch allein und für sich im Reagenzglas die besagte Zerlegung des Zuckers in Gang zu setzen vermag. Durch die Aufdeckung dieser neuen Thatsache hat die durch Hefen erregte Alkoholgärung mit einem Schlage den Charakter einer unmittelbaren Lebensäußerung der Hefenzelle verloren und ist in die Gruppe der Enzymwirkungen eingerückt. Die Verfechter der prinzipiellen Wesensgleichheit und eventuell nur graduellen Verschiedenheit dieser beiden Erscheinungen müssen also ihre Bemühungen daraufhin richten, auch für die intramolekulare Atmung das Mitspielen eines solchen Enzymes zu erweisen. Solange diese Forderung noch unerfüllt ist, muß die Behauptung aufrecht bleiben, daß man auf Grund der bis heute vorliegenden Thatsachen im streng wissenschaftlichen Sinne zwischen Alkoholbildung auf dem Wege der (nur intracellulär verlaufenden) intramolekularen Atmung einerseits und der (auch extracellulär eintretenden) Alkoholgärung durch ein Hefeenzym andererseits zu unterscheiden habe."

Daß wir für die Gärung der Hefezellen ein Enzym kennen, für die intramolekulare Atmung zur Zeit nicht — das ist also der Unterschied zwischen den beiden Vorgängen, aber auch der einzige; und darum sollen beide grundsätzlich verschieden sein? Und wenn wirklich der (sehr schwierige! — vergl. oben im vierten Absatz) Nachweis erbracht würde, daß die intramolekulare Atmung auf der eigensten Thätigkeit des Protoplasma beruht, so bleibt doch bestehen, daß in den oben zusammengestellten vier Hauptpunkten die alkoholische Gärung mit der intramolekularen Atmung genau übereinstimmt. Auch sie bedeutet einen Gewinn an Lebensenergie bei Sauerstoffabschluß, durch Wanderung der O-Atome innerhalb des Moleküls. Wenn wir der Gärung eine Definition geben wollen, welche die intramolekulare Atmung ausschließt, so können wir das nur insofern, als wir die letztere den höheren, die

erstere den Mikroorganismen zuschreiben. Die innige Verwandtschaft beider Erscheinungen hat auch längst ihren sprachlichen Ausdruck gefunden: die „Selbstgärung“ zuckerhaltiger Früchte ist intramolekulare Atmung, und die „intramolekulare Atmung der Hefezellen“ ist nichts anderes, als die Vergärung von Zucker, der nicht direkt von außen aufgenommen, sondern aus gespeichertem Glykogen, vielleicht auch durch Spaltung von Eiweißstoffen gewonnen wurde. Beide Vorgänge wären eben nur dann deutlich zu trennen, wenn für die intramolekulare Atmung die Nichtexistenz eines Enzyms bewiesen wäre; einander sehr nahe stehend würden sie aber dann immer noch bleiben [1]).

Die Gärung also ist als bioënergetischer Vorgang der Atmung nahe verwandt, was ja in dem Wort: intramolekulare Atmung bereits zum Ausdruck kommt. Der immerhin bedeutende Unterschied liegt eben darin, daß in dem einem Fall die Lebensenergie durch vollständige Verbrennung vermittelst atmosphärischen Sauerstoffes, in dem anderen durch teilweise Oxydation, durch Umlagerung von gebundenem Sauerstoff erzeugt wird. Auf die Thatsache, daß die Atmung aller höheren Tiere in der komplizierteren Weise vor sich geht, daß ihnen im Blut lose gebundener Sauerstoff zugeführt wird, will ich hier nicht näher eingehen; die Befreiung dieses Sauerstoffes ist natürlich etwas anderes, als die unten zu erwähnende Reduktion von Nitraten und Sulfaten. Einige Arten der Atmung aber werden wir zu beleuchten haben, zumal sie zur Gärung Beziehungen aufweisen und zum Teil direkt als Gärungen bezeichnet zu werden pflegen.

Hier ist zuerst die „Essigsäuregärung“ zu nennen, d. h. die aërobe Erzeugung derselben durch Oxydation von Aethylalkohol; sie ist, namentlich auch in ihrer Abhängigkeit vom Luftsauerstoff, der Atmung direkt analog, nur daß nicht Kohlenhydrat zu Kohlensäure und Wasser, sondern Alkohol zu Essigsäure und Wasser oxydiert wird. Die erzeugte Essigsäure ist im Uebermaß schädlich (das gilt nicht nur für Produkte der Gärung, sondern auch der Atmung), sie kann aber bei Luftzutritt zu Kohlensäure weiter oxydiert werden, dient also selbst wiederum als Atemmaterial [2]). Von unserem Prototyp der Gärung ist ihre Bildung dadurch wesentlich unterschieden, daß sie eine einfache Oxydation, keine Zersetzung ist, und nach alledem der Atmung weit näher steht, als den Gärungen. Die Erzeugung von Oxalsäure und Citronensäure durch Schimmelpilze oder Bakterien ist physiologisch von der Essigsäurebildung kaum zu trennen; das Auftreten von Oxalsäure in höheren Pflanzen ist zu mannigfaltig und noch zu wenig geklärt, als daß hier näher darauf eingegangen werden könnte. Hingegen ist die Anhäufung von Aepfelsäure in

1) Ueber die enge Zusammengehörigkeit von Gärung, intramolekularer und normaler Atmung vergl. Pfeffer, Ueber intramolekulare Atmung. (Arbeiten aus dem Botan. Institut zu Tübingen. Bd. I. Heft 4. Leipzig 1885. p. 656 ff.)

2) Solche Weiterverwendung der Essigsäure ist natürlich nur bei Sauerstoffzutritt möglich, nicht aber, wenn sie anaërob, gleichzeitig mit Buttersäure, durch echte Gärung entsteht.

succulenten Pflanzen zweifellos ein Erfolg der Atmung und der Essigsäure-Bildung direkt analog — ein Grund mehr, um die letztere nicht unter die Gärungen zu zählen, denn dann müßten wir folgerichtig auch die Crassulaceen etc. zu den Gärungsorganismen stellen.

Ob die Oxydation der Fette zu Kohlenhydraten, wie sie in keimenden ölhaltigen Samen und Sporen, in den „Fettbäumen" etc. im Frühjahr vor sich geht, hierher zu rechnen ist, ist fraglich und sehr schwer zu entscheiden; die Sauerstoffaufnahme ist ja sehr bedeutend: 1 Mol. Oleïn z. B. enthält nur $^2/_{19}$ so viel an O, als die ensprechende Menge Zucker; ob aber der Erfolg dieser Oxydation wirklich Lebensenergie oder etwa nur den Stoffumsatz begünstigende Wärme bedeutet, muß dahingestellt bleiben.

Daß in der großen Mehrzahl der Fälle Kohlenhydrate oder doch Kohlenstoffverbindungen veratmet werden, gehört darum doch nicht unbedingt zum Wesen der Atmung; wir können mit vollem Recht (verg. Pfeffer, Physiologie. 2. Aufl. Bd. II, p. 531 Anm.) auch jene, für den Gesamtstoffwechsel der belebten Natur so überaus wichtigen Oxydationsvorgäuge hierher rechnen, durch welche die Nitroso- und Nitrobakterien den Ammoniakstickstoff in die, höheren Pflanzen nutzbare Form der Nitrate überführen — ebenso wie die Sulfatbildung aus Schwefelwasserstoff seitens der Schwefelbakterien[1]). Das Moment, daß diese Vorgänge als echte Atmungen charakterisiert, ist die einfache Oxydierung des Atemmaterials durch atmosphärischen Sauerstoff.

Der Thätigkeit der Nitrat- und Sulfatbildner entgegengesetzt ist die anaërobe Atmung derjenigen Mikroorganismen, die zwar Kohlenstoffverbindungen als Atemmaterial verbrauchen, aber durch atmosphärischen Sauerstoff in ihrer Lebensthätigkeit gestört werden, und darauf angewiesen sind, den doch einmal nötigen Sauerstoff durch Reduktion — von Nitraten, Nitriten, Sulfaten — zu gewinnen. Dieser Vorgang stellt sich als echte Atmung dar, andererseits zeigt er dadurch, daß Oxydation und Reduktion Hand in Hand gehen, enge Beziehungen zu den eigentlichen Gärungen. Der Unterschied von letzteren liegt darin, daß eine vollständige Verbrennung des Atemmaterials stattfindet, und daß der Sauerstoff aus Molekülen von ganz anderer Art stammt, als diejenigen sind, an die er neu gebunden wird. — Es scheint, als ob eine ganze Reihe sonst aërobischer Mikroorganismen ihren Sauerstoffbedarf durch Nitratzerstörung decken könnten.

Eine Oxydation anderer Art ist die Umsetzung von Harnstoff zu kohlensaurem Ammoniak, unter Aufnahme von Wasser, vielleicht? unter vorübergehender Bildung eines Hydrates, dessen Atome sodann gegeneinander verschoben werden:

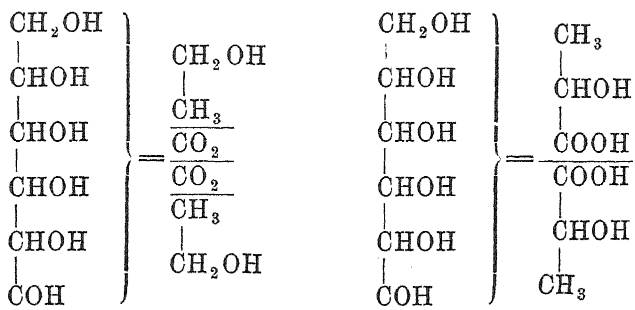
$$O = C \left\langle \begin{matrix} N = H_2 \\ N = H_2 \end{matrix} \right. + 2\,H_2O = O = C \left\langle \begin{matrix} O - N \equiv H_4 \\ O - N \equiv H_4 \end{matrix} \right.$$

1) Die Frage, ob wir die von Bakterien bewirkte Oxydation von Eisenoxydul zu Oxyd ebenfalls zu den bioënergetischen Vorgängen stellen dürfen, scheint noch nicht spruchreif.

Als bioënergetische Prozeß erkennt man sie leicht durch das Auftreten neuer C-O-Bindungen; von der Atmung ist sie getrennt durch das Fehlen des atmosphärischen Sauerstoffes, für eine echte Gärung fehlt das Moment der Zertrümmerung von Molekülen.

Befremdlich erscheint, daß diese Umsetzung auch außerhalb der Zellen vor sich gehen kann, durch ein schon während des Lebens austretendes Enzym; vielleicht dürfen wir uns das so erklären, daß dem Enzym, der „Urease“, die sich übrigens außerhalb der Zellen sehr rasch zersetzt, die Eigenschaft der Diffundierbarkeit zukommt, obwohl sie eigentlich ganz überflüssig ist, ebenso überflüssig wie in den Hefezellen die Erzeugung von Zymase bei Sauerstoffzutritt und von Invertase in reiner Glukoselösung. So viel scheint sicher gestellt, daß aus gesunden Zellen weniger Urease herausdiffundiert, als aus künstlich geschwächten; vielleicht ist ihr Austritt überhaupt schon als anormal anzusehen.

Wir kommen zu derjenigen Kategorie, die nach obigem als die eigentlichen echten Gärungen s. str. zu bezeichnen sind. Dem, was bereits vorher hierüber gesagt wurde, habe ich wenig mehr hinzuzufügen. Ihr Wesen besteht in der Umlagerung von Sauerstoff innerhalb desselben Moleküls (oder mindestens der gleichen Substanz) mit Entstehung neuer C-O-Bindungen, wie sie aus den beistehenden Formeln erhellt:



Andere Gärungen verlaufen minder einfach, so die der Buttersäure (vgl. W. Omelianski a. a. O.), die auch Essigsäure, Kohlensäure und Methan oder freien Wasserstoff liefert, und zwar in so wechselnden Mengen, daß sich eine einfache Gleichung darüber nicht aufstellen läßt. Nochmals sei hier auf die sehr verschiedenartigen Zersetzungen der Eiweißkörper, bei denen neben Fettsäuren auch Amidosäuren, zum Teil solche der aromatischen Reihe entstehen, die teils Produkte echter Gärung sein, teils selbst wieder einer solchen unterliegen können. — Die engen Beziehungen zwischen Gärung und intramolekularer Atmung wurden oben erläutert; hier sei noch darauf hingewiesen, daß die letztere nicht bloß Alkohol und Kohlensäure, sondern gegebenen Falles auch Milchsäure zu erzeugen vermag, wenigstens ist das Auftreten dieser im arbeitenden Muskel mit Wahrscheinlichkeit darauf zurückzuführen, daß der Verbrauch an Energie größer ist, als die verhältnismäßige Zufuhr von Sauerstoff, so daß also die normale Atmung durch die

intramolekulare ersetzt werden muß. Dieses Beispiel lehrt, daß die Gärungsorganismen in ihrem bioënergetischen Stoffwechsel von den höheren Wesen gar nicht so sehr verschieden sind — auch zeigt es wiederum die weitgehende Uebereinstimmung von Gärung und intramolekularer Atmung.

Einer sogenannten „Gärung“ muß hier noch in Kürze gedacht werden, um darzulegen, daß sie mit eigentlichen Gärungen überhaupt nicht das mindeste zu thun hat: die „*schleimige Gärung*“, die zu dem unpassenden Namen hauptsächlich darum gekommen ist, weil sie als unerwünschte Begleiterscheinung in den Gärungsgewerben, oder sonst mit echten Gärungen vergesellschaftet, oder als massenhafte Zersetzung gärfähigen Materiales aufzutreten pflegt. Der Schleim, wohl immer verquollene Membransubstanz oder sonst eine Ausscheidung der Zellen, verdankt seine Entstehung selbstredend einer Synthese, und wenn auch das Material zum Aufbau durch Zersetzung gewonnen wird, so ist das eben einer jener gewöhnlichen Vorgänge des Stoffwechsels, welche den Bedingungen für ihre Einreihung unter die Gärungserscheinungen in keiner Weise genügen. Mit der alkoholischen Gärung hat aber der Vorgang nur das gemeinsam, daß verhältnismäßig große Mengen von Substanz in kurzer Zeit verändert werden können — was aber keinesfalls zu den typischen Eigenschaften jeder Gärung gehört (vgl. W. *Omelianski*, a. a. O.).

An Stelle der unklaren und ganz heterogene Dinge einschließenden Definitionen der Gärung schlage ich somit die folgende vor:

Gärungen sind diejenigen durch *niedere Organismen* bewirkten, *bioënergetischen* — der Atmung verwandten und sie ganz oder teilweise vertretenden — Umsetzungen, deren Wesen in *Umlagerung von Sauerstoffatomen innerhalb der gleichen Substanz*, unter *Entstehung neuer, vermehrter C-O-Bindungen* beruht.

Vom Begriff der Gärung auszuschließen und der *Verdauung* anzureihen sind die Spaltungen der höheren *Kohlenhydrate* (vom Disaccharid an), der *Fette* und der (mindestens der unlöslichen) *Eiweißstoffe*.

Wir gelangen zu der folgenden, der Natur der Gärungserscheinungen möglichst gerecht werdenden Einteilung.

I. Das gesamte Atemmaterial wird oxydiert.

aërob {

A. mit atmosphärischem Sauerstoff.
- 1) Oxydierung von Kohlenstoffverbindungen.
  - a) Endprodukt Kohlensäure: normale Atmung,
  - b) „ organische Säuren: Essig-, Oxal-, Citronen-, Aepfelsäure.
- 2) Oxydierung von Stickstoffverbindungen zu Nitrit und Nitrat.
- 3) Oxydierung von Schwefelwasserstoff zu Sulfat.
- 4) ? „ von Eisenoxydul zu Eisenoxyd.

anaërob:

B. mit Sauerstoff, der durch Reduktion (von Nitrat, Nitrit, Sulfat) gewonnen ist.

C. durch Einlagerung von Wassermolekülen: Harnstoffgärung.

II. Das Atemmaterial wird zersetzt, ein Teil oxydiert, der andere Teil reduziert.

A. intramolekulare Atmung bei höheren Organismen.

B. echte Gärung der Mikroorganismen.

Unser System der Gärungen erhebt weder den Anspruch, vollständig zu sein, noch den, Abschluß und Endziel der Erkenntnis zu bedeuten, nur möchte es zur Klärung der Begriffe und zu fernerer Anregung ein wenig beigetragen haben.

Nochmals sei betont, daß ich mich nicht rühme, viel Neues gesagt zu haben; veranlaßt sind obige Zeilen durch die in neuester Zeit immer wiederkehrenden Versuche, zwischen Atmung und Gärung prinzipielle Schranken aufzurichten, und durch das häufige, mit wissenschaftlicher Klarheit unvereinbare Zusammenwerfen der echten Gärungen mit Erscheinungen, die sowohl chemisch wie physiologisch grundverschiedener Natur sind.

Bakteriologische Untersuchungen über Mehlteiggärung.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich.]

Von **Wilh. Holliger**, Seminarlehrer in Wettingen (Aargau, Schweiz).

(Fortsetzung.)

c) Verhalten gegen Milch.

Ein Versuch mit steriler Vollmilch bei 30° ergab nicht das erwartete Resultat. Nach Litteraturangaben[1]) sollte Coli Milch nach kurzer Zeit gerinnen machen. Die einzelnen Stämme verhielten sich aber sehr verschieden. Die erste Koagulierung der Milch durch Coli wurde erst nach 8 Tagen beobachtet, während Levans schon nach 3 Tagen koagulierte. Vielleicht war bei dem Versuch mit Vollmilch die Rahmdecke an der geringen Gerinnungsfähigkeit schuld, indem unsere Teigbakterien schon bei früherer Gelegenheit eine weniger ausgesprochene Neigung für streng anaërobes Wachstum gezeigt hatten und unter der die Luft abschließenden Rahmschicht sich weniger ausgiebig entwickelt haben. Der Versuch wurde deshalb wiederholt und zwar mit frisch centrifugierter und sterilisierter Magermilch. Eine Versuchsreihe stand bei 30°, die andere im Brutschrank.

---

1) Lehmann und Neumann, Bakt. Diagnostik; Flügge, Mikroorganismen.

	Verhalten bei 30°	Verhalten bei 36°
Coli M I	Nach 4 Tagen Milch geronnen	Starke Gerinnung mit farblosem Serum schon nach 24 Stunden.
Coli M II	Verhalten analog dem von Coli M. I.	
Coli M III	Ganz gleich wie Coli M I und M II.	
Coli K I	Ganz gleich wie die vorigen 3 Coli-Rassen.	
Coli K II	Nach 10 Tag. wurden die Kulturen vernichtet, ohne daß unterdessen Gerinnung erfolgt wäre.	Gerinnung erst nach 6 Tagen.
Coli K III	Ganz gleich wie Coli K II.	
Levans	Nach 2 Tagen stark geronnen mit deutlicher Serumzone.	Schon nach 24 Stunden geronnen mit festem Koagulum.
Gelb I	Nach 2 Tagen war auf der Milch eine schmale Serumschicht sichtbar, beim Neigen des Gläschens war von Gerinnung nichts mehr zu bemerken. Das Serum war nach 9 Tagen etwa 2 mm breit, eigentliche Gerinnung war unterdessen nicht erfolgt.	Nach 6 Tagen Milch fest koaguliert.
Gelb II	Verhielt sich ganz wie gelb I, nur war die Serumzone bei 30° etwas schmäler.	
Gelb III	Gerinnung mit breiigem Koagulum nach 9 Tagen.	Nach 4 Tagen geronnen.
Weiß I	Nach 9 Tagen weder Serum noch Gerinnung.	Nach 6 Tagen mit breiigem Koagulum geronnen.
Weiß II	Nach 9 Tagen mit festem Koagulum vollständig geronnen.	Nach 4 Tagen geronnen.
Weiß III	Nach 9 Tagen weder Serum noch Gerinnung.	Nach 6 Tagen geronnen, wie Weiß I.

Meist ist auch das Auftreten von Gasblasen beobachtet worden, was nicht wundert, da wir ja mit Milchzuckervergärern experimentierten. Auffallend ist, daß Gelb II viel Gas entwickelte, obwohl wir weiter unten sehen werden, daß diese Rasse im Gärkölbchen nur schwache Gärkraft aufwies. Der vorliegende Stamm von Gelb III, der weder Milch- noch Traubenzuckerbouillon vergor, entwickelte auch in Milch kein Gas.

Am raschesten koagulierte von allen 13 Stämmen Levans. Daß die Coli-Stämme bei 36° verhältnismäßig rasch das Caseïn ausfällten, war zu erwarten, da sie aus Warmblütlern isoliert wurden, also an eine Existenz bei höherer Temperatur angepaßt waren.

Es ist anzunehmen, daß dort, wo nach 9 Tagen die Milch noch nicht geronnen, dieselbe bei noch längerer Beobachtungsdauer doch noch koaguliert wäre.

Gelber und weißer Gasbildner des Teiges, Levans und Coli können Milch koagulieren, die einzelnen

tStämme thun dies aber mit verschieden großer Inensität.

Eine Abgrenzung des Bact. coli gegen die übrigen untersuchten Gasbildner ist nach dem Verhalten gegenüber steriler Milch nicht möglich.

d) Kartoffelkulturen bei 30°.

Levans. Kräftige Auflagerung von schmutzig-weißlicher Farbe, ohne Glanz, sich nicht weit von den Impfstrichen entfernend.

Weiß, ähnlich wie bei Levans, Auflagerung matt glänzend.

Gelb, Alle 3 Stämme etwas voneinander verschieden.

I. Kräftige Auflagerung, Oberfläche glänzend und durch Höckerchen etwas rauh. Farbe ausgesprochen schmutzig-gelb, später lebhafter gelb werdend, ähnlich III, aber nicht saftig glänzend.

II. Aehnlich, aber ohne Glanz.

Bei I und II ist der Verlauf der Impfstriche noch deutlich sichtbar.

III. Lebhafter gelb, saftig glänzend, scheinbar verflossen. Ursprünglicher Verlauf der Impfstriche nicht mehr erkennbar.

Bei allen 3 „gelben" greift das Wachstum später auch auf die Seitenflächen über, fast die ganze Kartoffel überziehend.

Coli K. Ziemlich typisch, bei II und III Stich ins Gelbliche.

Coli M. Auflagerung durchschnittlich schwächer entwickelt als bei Coli K. Kein gelblicher Farbenton.

Bei den „Weißen" und Levans ist keine Spur von Stich ins „Gelbliche" zu sehen, während die Beschreibung von Wolffin vollständig auf unseren Gelb III paßt. Auch noch andere Angaben von Wolffin lassen die Vermutung aufkommen, daß dieser mitunter unbewußt mit dem gelben Gasbildner gearbeitet hat, wie wir bereits früher hervorgehoben haben.

e) Prüfung auf Gasbildung.

Traubenzuckeragar-Stichkulturen lieferten in 24 Stunden bei 30° folgenden Befund:

Levans sehr starke Gasbildung.

Weiß I }
„ II } starke Gasbildung.
„ III }

Gelb I starke Gasbildung, aber doch etwas schwächer als bei den „weißen".

Gelb II Spur von Gas.

Gelb III kein Gas.

Coli. Bei allen 6 Rassen mittelstarke Gasbildung, am stärksten bei K I, am schwächsten bei K III.

Levans entwickelte am meisten Gas, wahrscheinlich weil er auf Zuckeragar fortgezüchtet wird — wenigstens haben wir ihn auf diesem Nährboden erhalten — und sich so zu einer besonders gärfähigen Rasse entwickelt hat. Das eigentümliche Verhalten von Gelb III könnte zu dem Schlusse verleiten, daß hier eine von I und II verschiedene, nicht gasbildende Art vorliegt. Daß es sich jedoch nur um das außerordentlich starke Schwanken einer labilen Funktion handelt, beweist folgender Versuch: Aus der gleichen

reinen Oberflächenplatte, aus der dieser Stamm abgeimpft wurde, haben wir noch mehrere Kolonieen auf zuckerhaltige Nährböden übertragen und darunter noch andere gefunden, welche sich gegen Zucker vollkommen indifferent verhielten, während andere stürmisch Gas bildeten und noch andere sich als schwache oder mittelstarke Zuckervergärer erwiesen. Da es sich bei der ganzen Versuchsreihe lediglich darum handelte, das Verhalten des gelben und weißen Gasbildners gegenüber charakteristischen Coli-Stämmen zu fixieren, so beschränkten wir uns auf die Feststellung obiger Thatsachen und nahmen davon Umgang, den nicht gärenden Stamm Gelb III durch einen gärtüchtigen zu ersetzen.

Bei den nun folgenden Versuchen in Gärkölbchen bildeten bei Verwendung von Traubenzuckerbouillon sämtliche 13 Stämme Gas, mit Ausnahme von Gelb III, bei Milchzuckerbouillon sämtliche, mit Ausnahme von Gelb II und III. Die gemessenen Gasmengen waren bei den einzelnen Kulturen sehr verschieden.

Das bei der Vergärung von Zucker, speziell von Traubenzucker durch Bact. coli und verwandte Arten gebildete Gas besteht nach Untersuchungen zahlreicher Autoren der Hauptsache nach aus Kohlensäure und Wasserstoff. Nach Th. Smith[1]) soll für Coli das Mengenverhältnis sein $H_2 : CO_2 = 2 : 1$ und zwar sowohl bei Zersetzung von Traubenzucker als auch von Milchzucker. Die Feststellung der Mengenverhältnisse geschah auf folgende einfache, allerdings keine große Genauigkeit beanspruchende Weise: Der im kugelförmigen Teil über der Flüssigkeit frei gebliebene Raum des Gärkölbchens wurde vollständig mit 10-proz. Alkalilauge gefüllt, hierauf das Ganze kräftig geschüttelt und die Flüssigkeit durch entsprechende Neigung des Kölbchens wieder so in die Kugel gebracht, daß zwischen dem verschließenden Finger und der Flüssigkeit keine Gasblase blieb. Nach Entfernung des letzteren stieg die Flüssigkeit in der Röhre je nach dem Grade der stattgefundenen Absorption. Das nicht absorbierte Gasvolumen, der Hauptsache nach aus Wasserstoff bestehend, konnte direkt abgelesen und mit dem ursprünglichen Gesamtvolumen verglichen werden.

Wolffin fand bei seinen nach genauen gasanalytischen Methoden ausgeführten Untersuchungen für Coli das Verhältnis entsprechend den Angaben von Smith, während er für Levans die Zusammensetzung des Gases konstant, das Verhältnis zwischen Wasserstoff und Kohlensäure aber umgekehrt wie bei Coli erhielt. Er glaubt indessen, diesem Befunde keine Bedeutung beimessen zu müssen, namentlich mit Rücksicht auf die Thatsache, daß von einigen Seiten für der Coli-Gruppe angehörende Bakterien bezüglich der Zusammensetzung des Gases von den oben erwähnten abweichende Verhältnisse gefunden worden sind.

Absichtlich haben wir keine genauen Gasanalysen gemacht, indem wir die Frage entscheiden wollten, ob nicht vielleicht durch

1) Smith, Th., The fermentation tube with special reference to anaërobiosis and gas production among bacteria. (Ref. Centralbl. f. Bakt. und Par. Bd. XIV. 1893.)

ganz einfache Mittel eine Unterscheidung der Erreger der spontanen Teiggärung von Coli möglich sei und verfuhren bei der Bestimmung des Verhältnisses zwischen Wasserstoff und Kohlensäure nach den Angaben von Smith. Bei einem ersten Versuch mit Gärkölbchen, die nach Beendigung der Gärung noch mehrere Tage wegen Mangel an Zeit nicht in Angriff genommen werden konnten, resultierten keine konstanten Zahlen. Die Ursache ist wohl darauf zurückzuführen, daß ein Teil der Gase vom Inhalt der Gärkölbchen absorbiert und bei der Wärme des Thermostaten aus der Flüssigkeit in die Außenluft übergetreten ist. Dieser Vorgang wird in erster Linie für die Kohlensäurebestimmung zu großen Fehlern führen müssen. Wir wählten nun Gärkölbchen, wo die Gärung noch nicht oder eben erst beendigt war und erhielten folgende Zahlen.

Gärkölbchen mit 2-proz. Traubenzuckerbouillon bei 36 °

Entwickeltes Gasvolumen nach Tagen	1	2	Durch 10-proz. KOH absorbierte Gasmenge (CO_2)	Ungefähres Verhältnis des durch KOH absorbierten Gases zum nicht absorbierten
Gelb I	1,8	2,8	1,9	2:1
Gelb II	—	—	—	—
Gelb III	—	—	—	—
Weiß I	2,6	4,5	2,6	2:1
Weiß II	2,1	3,9	2,4	2:1
Weiß III	2,2	4,8	3,0	2:1
Levans	1,7	4,8	3,3	2:1
Coli K I	2,2	2,6	0,7	1:2
Coli K II	2,0	2,4	0,7	1:2
Coli K III	2,0	2,8	0,9	1:2
Coli M I	3,0	4,3	1,4	1:2
Coli M II	2,8	4,0	1,4	1:2
Coli M III	3,6	4,3	1,5	1:2

Die Zahlen bedeuten Kubikcentimeter Gas.

Trotz der etwas rohen Methode sind die Ergebnisse in sehr schöner Uebereinstimmung unter sich und auch mit Smith und Wolffin. Bei „Gelb“, „Weiß“ und Levans macht die Kohlensäure ca. $^2/_3$ und bei Coli ca. $^1/_3$ des gesamten in 2 Tagen gebildeten Gasvolumens aus. Schon beim Schütteln der Kölbchen ist das verschiedene Verhalten sehr auffällig und in jedem Fall ohne Irrung zu sagen, ob eine Coli-Kultur in die Bouillon eingeimpft wurde oder nicht, indem bei Coli der verschließende Finger viel weniger stark in die Mündung des Kölbchens gepreßt wird.

Ebenso schöne Uebereinstimmung weisen auch die Zahlen der folgenden Tabelle auf, wo die Gärung bei 30 ° während 4 Tagen andauern gelassen wurde.

Gärkölbchen mit 2-proz. Traubenzuckerbouillon bei 30°.

Entwickeltes Gasvolumen nach Tagen	1	2	3	4	Mit 10-proz. KOH absorbierte Gasmenge (CO_2)	Ungefähres Verhältnis des absorbierten Gases (CO_2) zum nicht absorbierten
Gelb I	0,9	2,7	3,0	4,1	2,9	2 : 1
Gelb II	—	—	1,1	3,7	2,9	2 : 1
Gelb III	—	—	—	—	—	—
Weiß I	1,3	2,9	4,4	5,5	3,9	2 : 1
Weiß II	1,7	3,4	4,7	5,8	4,2	2 : 1
Weiß III	1,0	2,1	3,7	5,0	3,6	2 : 1
Levans	1,4	2,4	3,6	4,9	3,5	2 : 1
Coli K I	0,6	1,4	1,8	2,0	0,6	1 : 2
Coli K II	2,6	3,0	3,2	3,2	1,0	1 : 2
Coli K III	1,3	2,6	3,0	3,0	0,9	1 : 2
Coli M I	1,0	1,5	2,3	2,8	1,0	1 : 2
Coli M II	1,5	2,1	2,8	3,0	1,0	1 : 2
Coli M III	1,0	2,1	2,8	2,8	0,8	1 : 2

Die Zahlen bedeuten Kubikcentimeter Gas.

Diese Zahlen dürften wohl zu dem Schlusse berechtigen: Die Erreger der spontanen Teiggärung können sehr leicht von Coli unterschieden werden, wenn mit der Untersuchung der Gärkölbchen nicht zu lange gewartet wird.

Damit ist ein wesentlicher Unterschied zwischen Coli und den übrigen untersuchten Gasbildnern nachgewiesen.

f) Prüfung auf Indolreaktion.

Es wurde nach den von Lehmann[1]) aufgestellten Vorschriften verfahren. Eine Reihe von Bouillonkulturen kam in den Thermostaten von 37°, während eine Parallelreihe bei Zimmertemperatur stehen gelassen wurde. Nach 2 Tagen war überall die Nährflüssigkeit stark getrübt, am geringsten bei Coli K I und Gelb III. Die Reaktionen wurden nach 8tägiger Kultur vorgenommen und jede doppelt ausgeführt, ohne dabei auf Differenzen zu stoßen.

Bouillonkulturen bei 37°.

Coli K I „ K II „ K III „ M I „ M II „ M III	Kräftige bis sehr kräftige Indolreaktion. Am stärksten bei M II.
Weiß I „ II „ III Levans	Deutliche, aber schwächere Indolreaktion. Die Farbe tritt erst einige Sekunden nach Zusatz der Nitritlösung ein, während bei den Coli-Rassen im Moment der Berührung das Auftreten des Farbstoffes sichtbar wird.
Gelb I „ II „ III	Wie bei den „Weißen“. Am schwächsten bei Gelb III.

1) Lehmann und Neumann, Bakt. Diagnostik.

Bouillonkulturen bei Zimmertemperatur.
Bei allen 13 Stämmen ist die Indolreaktion sehr schwach, aber vorhanden.

In Bezug auf Indolreaktion existiert zwischen Coli und den übrigen untersuchten Gasbildnern kein bezw. nur ein gradueller Unterschied.

Aus obigen Gegenüberstellungen geht mit Deutlichkeit hervor, daß der „weiße" Gasbildner übereinstimmend ist mit Bac. levans Lehmann und Wolffin. Es läßt sich nicht leugnen, daß dieser Organismus in mehrfacher Beziehung Aehnlichkeit mit Bact. coli zeigt, wie schon Wolffin, F. Fränkel und Papasotiriu erwähnten. Letzterer hält die Uebereinstimmung für so weitgehend, daß er den Namen „levans" verschwinden lassen will. Durch unsere Untersuchungen ist die Frage in ein anderes Licht gerückt worden, indem einmal neue, wichtige Unterschiede bekannt wurden und andererseits bekannte, aber in ihrer Bedeutung unterschätzte Differenzen besser gewürdigt werden. Abgesehen von den unwesentlichen und unscharfen Verschiedenheiten im Aussehen der Plattenkolonieen und des Wachstums auf Strichkulturen, welch letztere in gewissem Sinne das Verhalten von Oberflächen-Plattenkolonieen widerspiegeln, sind folgende Differenzen zu berücksichtigen:

1. Die Art der Bewegung.
2. Die Verflüssigung der Gelatine.
3. Die Zusammensetzung des gebildeten Gases.

Namentlich 2 und 3 sind wichtig und ermöglichen leicht und sicher ohne Anwendung komplizierter Hilfsmittel eine Trennung der beiden Formen. Auch in einer weitgefaßten Artcharakterisierung für Bact. coli wird immer die Nichtverflüssigung der Gelatine betont. Wolffin findet in der prozentualen Zusammensetzung des Gases keinen zwingenden Grund, die beiden Bakterien voneinander zu trennen, obwohl er stets konstante Verhältnisse erhalten hat. Aus der Litteratur sind Fälle bekannt, wo allerdings für Coli die Möglichkeit eingeräumt wird, daß gewisse Rassen Gas in anderen Verhältnissen liefern können. Eine Erklärung für diese seltenen Fälle liegt vielleicht in der Beobachtung von Mary Engle Pennington und George C. Keisel[1]), nach welcher das Verhältnis der Gase zu einander in bestimmtem Verhältnis zur Dauer der Gärung steht. Kohlensäure wird hauptsächlich am Anfang gebildet, während Wasserstoff in den späteren Stadien entsteht. Werden demzufolge gleich alte Kolonieen von Coli-Rassen, die unter den gleichen Bedingungen gewachsen sind, zur Vergleichung herbeigezogen, so dürfte die Zusammensetzung der Gase nicht mehr stark variieren. Selbstverständlich wäre es von Interesse, zu wissen, wie weit in jenen Fällen, die eine vom Normalen abweichende Zusammensetzung der Gärungsgase betreffen,

1) Pennington, Mary Engle und Keisel, George C., Gasentwickelnde Kraft des Bact. coli unter verschiedenen Bedingungen der Umgebung. (Ref. Chemisches Centralbl. 1900. II. — Journal Americ. Chem. Soc. Vol. XXII.(

der Begriff des Bact. coli gefaßt worden ist. Jedenfalls sprechen unsere Befunde ebenso sehr für eine eigentümliche Divergenz in den Zersetzungsprozessen bei Bact. coli einerseits und Bact. levans andererseits, wie auch die Ausscheidung eines peptonisierenden Enzyms bei letzterem einen ausgesprochenen Gegensatz zu ersterem bezüglich der zur Verfügung stehenden Agentien gegenüber Eiweiß und verwandten Substanzen bildet.

Aus diesen Gründen kommen wir im Gegensatz zu Papasotiriu zu dem Schlusse, daß die Art Bac. levans (nach der neueren, Lehmann'schen Nomenklatur Bacterium levans) Lehmann und Wolffin eine wohlberechtigte ist und aufrecht erhalten bleiben soll.

Was nun den gelben Gasbildner anbetrifft, so dürfte wohl Niemand auf den Gedanken kommen, diesen mit Bact. coli zu identifizieren. Die ausgesprochen gelbe Farbe, sowie das makroskopische und mikroskopische Aussehen der Kolonieen sprechen deutlich für eine Sonderstellung dieses Organismus. Eine gewisse Verwandtschaft mit Bact. levans kann jedoch nicht bestritten werden, und wie aus den gegebenen Zusammenstellungen ersichtlich ist, sind die gelbe Farbe und der Bau der Plattenkolonieen vorläufig die einzigen trennenden Merkmale. Ob bei der Untersuchung einer größeren Anzahl von Stämmen beider Typen sich nicht Uebergangsformen finden, bleibt weiteren Forschungen vorbehalten [1]). Ebenso kann nur die Untersuchung zahlreicher Stämme Aufschluß geben über die Variabilität, die innerhalb der durch eine Reihe von Merkmalen wohlcharakterisierten Gruppe immer noch möglich ist. Ein Blick auf die Beschreibung der Oberflächenplatten unserer 3 „Gelben" überzeugt sofort von der Identität von I und II, während III ein wesentlich abweichendes Verhalten zeigt. Wir müssen III vorläufig als atypische Form des gelben Gasbildners auffassen. Das merkwürdige Aussehen der Plattenkolonie bei III hängt offenbar zusammen mit dem hier ausgeprägteren Verflüssigungsvermögen. Wir sind diesem Kolonieentypus sonst nie begegnet und seine Anwesenheit in der Gruppe der zum Vergleich mit dem „Weißen" und mit Levans herangezogenen „Gelben" ist eine rein zufällige zu nennen. Hätten wir nämlich bei der Auswahl der Gasbildner aus Teig ähnlich wie bei den Coli-Stämmen die Bedingung aufgestellt, daß die für die Versuchsreihe verwendeten Kolonieen unter anderem typischen Aufbau besitzen müssen. so hätte Gelb III nicht in Betracht kommen können.

Eine Vergleichung unserer 3 gelben Gasbildner mit schon beschriebenen Arten, speziell mit den in Migula's [2]) großem Sammelwerk aufgeführten hat bezüglich der Identifizierung zu keinem positiven Ergebnis geführt. Wir halten indessen eine Namengebung für nicht angebracht, so lange weitere Untersuchungen, die

1) Die Gruppe der aus Mehlteig isolierten gelben Gasbildner wird zur Zeit im hiesigen Laboratorium einer näheren Bearbeitung unterzogen.

2) Migula, System der Bakterien. Bd. II. 1900.

zur Abgrenzung gegen verwandte Formen Anhaltspunkte geben könnten, noch ausstehend sind und begnügen uns mit folgender Feststellung:

In spontan gärenden Teigen ist als Gärungserreger neben dem coli-ähnlichen Bact. levans regelmäßig und meist in größerer Menge als letzteres ein die Gelatine verflüssigendes, fakultativ anaërobes, nicht sporenbildendes, in ausgesprochen gelben Kolonieen wachsendes, Trauben- und Milchzucker vergärendes Kurzstäbchen thätig.

II. Teil.

Die mit Hilfe von Sauerteig oder Preßhefe bewirkte Teiggärung.

Brot aus ungegorenem Teig wird in civilisierten Staaten nur noch für ganz bestimmte Zwecke (Schiffszwieback etc.) gebacken. Zur Einleitung der allgemein üblichen Gärung sind vorwiegend 2 Methoden im Gebrauch, die reine Hefegärung und die Gärung nach Zusatz von Sauerteig. Bei der letzteren wird vor dem Backen ein Teil des Teiges auf die Seite gelegt und dann mit dem neuen Teig gehörig durchgeknetet. Auf diese Weise wird der Erreger der Gärung von einem Teig auf den anderen jahrelang weiter gezüchtet. Nach einer Zusammenstellung im Bäckerbuch[1]) wird in allen Ländern Europas und Nordamerikas der Sauerteig, der am längsten bekannte Gärungserreger, für Schwarzbrot auch jetzt noch überwiegend gebraucht, während für Weißbrot und feines Gebäck ein Hefezusatz vorgezogen wird. Die Wirkungsweise des Sauerteiges ist in ihren äußeren Erscheinungen schon seit unvordenklichen Zeiten bekannt; über die Prozesse, welche sich dabei abspielen, herrschte aber unter den Gelehrten bis in die neueste Zeit ein wahres Chaos der verschiedenartigsten Ansichten. Falsches und Wahres wurde durcheinander gemischt, so daß Flügge im Jahre 1886 in seinem Werke „Die Mikroorganismen“ wünschte, daß mit Hilfe genauer bakteriologischer Methoden Versuche über die Brotgärung angestellt werden, da wenig Zuverlässiges über dieses alltägliche Gärungsphänomen bekannt sei.

Schon 1760 betrachtete Malouin[2]) das Aufgehen des Brotteiges als das Resultat einer alkoholischen Gärung. Diese Ansicht konnte sich indessen nicht allgemeine Anerkennung verschaffen und anfangs des 19. Jahrhunderts nahm man allgemein eine spezifische Brotgärung an, ohne daß man sich über das treibende Agens eine klare Vorstellung machen konnte. Thénard kam auf

---

1) Das Bäckerbuch, ein praktisches Handbuch der Bäckerei aller Länder. Stuttgart (F. Krais) 1900/01.

2) Wir entnehmen diese und einige der weiteren Angaben folgenden zwei Werken: Boutroux, Le pain et la panification. 1897; Effront, Die Diastasen und ihre Rolle in der Praxis, übersetzt von Bücheler. 1900.

die alkoholische Gärung zurück in dem Sinne, daß er die Brotgärung als zusammengesetzt betrachtete aus der alkoholischen und der Säuregärung. Dumas kam in seinem Werk „Traité de Chimie" 1843 ebenfalls zu der Ansicht, daß es sich um eine alkoholische Gärung handle, wobei im Mehl schon vorgebildeter Zucker vergoren werde. Andere Forscher hingegen nahmen als gärungsfähige Substanz die Stärke an, die sich in großer Menge im Teige findet.

Von gewisser Seite wurde die Anwesenheit von Alkohol im gärenden Teig überhaupt bestritten und sogar behauptet, die Hefe erfahre während der Gärung keine Vermehrung, sondern solche, welche man künstlich dem Teige einfüge, werde nach kurzer Zeit abgetötet.

Bei der aufmerksamen Untersuchung von Sauerteigproben konnte die regelmäßige Anwesenheit von Bakterien in denselben nicht verborgen bleiben. Chicandard[1]) beschrieb 1883 den Bacillus glutinis, den er regelmäßig im Brotteig antraf und als Erreger der Brotgärung betrachtete.

Anläßlich einer Brotkrankheit in Belgien beschäftigte sich Laurent[2]) auch mit der normalen Brotgärung und isolierte ein Kurzstäbchen, das er konstant und in großer Menge im Teige fand. Dieser Bacillus panificans sollte das Ferment der Gärung sein. Die von Chicandard und Laurent beschriebenen Bakterien sind indessen kaum rein gezüchtete Arten und fallen für die vorliegende Arbeit außer Betracht.

Aimé-Girard[3]) analysierte sehr genau die bei der Brotgärung entstehenden Gärungsprodukte. Er fand mit Sicherheit Alkohol und bestimmte die Menge desselben im Mittel als 3,15 ccm per kg Teig. Die entstehenden Gase bestehen ausschließlich aus CO_2, welche mit Luft, die dem Mehl eingeknetet wurde, gemischt ist. Dem Gewicht nach fand er ungefähr gleichviel Kohlensäure wie Alkohol. Dasselbe Verhältnis hatte Pasteur für die alkoholische Gärung gefunden, nämlich $\frac{48,89\ (CO_2)}{51,11\ (\text{Alkohol})}$. Aus dieser Vergleichung der Analysen schloß Aimé-Girard, daß die Teiggärung eine rein alkoholische, also Hefegärung sei.

Endgültig war damit die Frage nach der eigentlichen Ursache der Sauerteiggärung keineswegs gelöst, allgemein wurde jedoch die Thätigkeit von sogenannten geformten Fermenten bei dem Vorgang anerkannt. Auf neuem Wege versuchte nun Dünnenberger[4]) der Sache näher zu treten. Dieser hat durch einen Zusatz von 1-proz. Weinsäure die Bakterien stark geschädigt, während die Hefe unbeeinträchtigt blieb. So konnte die Thätigkeit der Bakterien bis zu einem gewissen Grade eliminiert und das Verhalten der Hefe allein studiert werden. Ausreichende

1) Chicandard, Comptes rend. 1883.
2) Laurent, La bactérie de la fermentation panaire. (Bull. de l'Académie roy. de Belgique. 1885.)
3) Aimé-Girard, Compt. rend. 1885.
4) Dünnenberger a. a. O.

Belege, wie weit die Unterdrückung der Bakterien durch den erwähnten Weinsäurezusatz gelungen ist, enthält die Dünnenberger'sche Arbeit allerdings nicht. Dieselbe ergab folgendes Resultat: „Die normale Brotgärung ist eine alkoholische. Als einzig wesentlicher Gärorganismus ist die Sproßhefe zu betrachten. Als Gärmaterial dient derselben die Maltose, welche aus einem Teil der Stärke des Mehles unter Einwirkung des Cerealins entsteht. Bakterien sind für die normale Brotgärung eine unnötige Verunreinigung und absolut entbehrlich. Das Aufgehen des Brotteiges wird in erster Linie bedingt durch die bei der alkoholischen Gärung auftretende Kohlensäure. Ferner sind infolge der durch die Backofentemperatur bedingten Expansion resp. Vergasung an der hebenden Wirkung beteiligt: Luft, Alkohol und Wasser und weiterhin in accessorischer, untergeordneter Weise noch allfällige, durch Bakterien gebildete flüchtige Fettsäuren".

Während Dünnenberger hauptsächlich die chemischen Fragen und das Verhalten der Hefe in das Gebiet seiner Untersuchungen einbezog, befaßte sich Peters[1]) kurze Zeit nachher eingehend mit der Bakterienflora des Sauerteiges. Es gelang ihm, 5 verschiedene Spaltpilze und 4 Hefen aus dem Sauerteig zu isolieren. Keine der Sauerteigbakterienarten konnte alkoholische Gärung hervorrufen. Ebenso führten die Versuche, damit im Mehl nennenswerte Gasmengen zu erzeugen, zu einem negativen Resultat. Die gefundenen Bakterien können somit zum Aufgehen des Teiges nicht wesentlich beitragen. Die durch Sauerteig hervorgerufene Brotgärung zerfällt nach Peters in mehrere, nebeneinander herlaufende, zum Teil ineinander greifende Umsetzungsprozesse, deren wesentlichster, die alkoholische Gärung durch Saccharomyceten hervorgerufen wird. Die durch Bakterien bedingten Säuregärungen und Lösungsvorgänge sind durchaus nicht unnütz, kommen aber erst in zweiter Linie in Betracht.

Durch Suchen nach anaëroben Bakterien entdeckte Popoff[2]) im Sauerteig regelmäßig ein fakultativ, anaërobes, unbewegliches Stäbchen, welches Milchsäure bildet und, dem Teig eingeimpft, in demselben die Erscheinungen der gewöhnlichen Brotgärung hervorrufen soll. Popoff schließt aus dem regelmäßigen Vorkommen dieses Bacillus im Teig, daß derselbe eine wichtige Rolle bei der Brotgärung spiele. Wir werden später noch auf diesen Organismus zurückzukommen haben.

Wolffin[3]) beobachtete mit „größter Konstanz und Regelmäßigkeit neben der Hefe, die im Sauerteig nie fehlt, ein Bakterium", nämlich das im ersten Teil dieser Arbeit beschriebene Bact. levans, und mißt diesem eine größere Bedeutung bei. Wolffin unterscheidet 3 Arten von Teiggärung: 1) Die reine Hefegärung bei der Weißbrotbereitung mit Preßhefe. 2) Reine Spaltpilzgärung

---

1) Peters, Die Organismen des Sauerteiges und ihre Bedeutung für die Brotgärung. (Botanische Zeitung. 1889.)

2) Popoff, Sur un bacille anaérobie de la fermentation panaire. (Annales de l'Institut Pasteur. 1890.)

3) A. a. O.

durch Bact. levans bei der in vielen Teilen Norddeutschlands gebräuchlichen Schrotbrotbereitung aus Mehl und Wasser allein. 3) Die kombinierte Gärung durch Hefe und Bact. levans bei der üblichen Schwarzbrotbereitung mit Sauerteig. Die folgenden Erörterungen werden sich zu einem großen Teile auf eine Nachprüfung der Wolffin'schen Versuche und eine Kritik der von diesem Autor gezogenen Schlußfolgerungen beziehen.

Zum Schlusse ist noch Boutroux zu erwähnen, der sich jahrelang mit der Brotgärung befaßte und die Ergebnisse seiner Untersuchungen in dem Werk „Le pain et la panification", welches 1897 erschien, niederlegte. Wenn man die verschiedenen Publikationen dieses Forschers vergleicht, so wird man finden, daß derselbe im Laufe seiner Untersuchungen die Ansichten geändert hat. Während er anfänglich im gärenden Teig eine Wirkung von Sproßhefen und Spaltpilzen sah, modifizierte er später seine Meinung in dem Sinne, daß die Teiggärung ausschließlich eine alkoholische Vergärung des Zuckers, der im Mehl schon vorhanden ist, durch Hefe darstellt. Alle anderen Mikroben des Teiges können, was das Aufgehen desselben angeht, nur unnütz oder schädlich sein. Eine genügend aktive Hefe in genügender Menge zugesetzt, überholt die Bakterien in ihrer Entwickelung. Diese können erst von dem Momente an kräftiger arbeiten, wo die Teiggärung beendigt ist.

Wir haben uns bei dieser geschichtlichen Einleitung kurz fassen können, weil die älteren Arbeiten wegen der Unvollkommenheit der Untersuchungsmethoden nur historischen Wert haben und sodann, weil die Arbeiten von Boutroux (l. c.) und Wolffin (l. c.) recht gute Litteraturzusammenstellungen enthalten, auf welche hiermit hingewiesen wird.

Damit gehen wir über zu den eigenen Untersuchungen über die mikroskopische Flora des Sauerteiges und ihre Funktion bei der Brotbereitung. Zunächst wurde versucht, zu ermitteln, ob die regelmäßig im Mehl vorkommenden Gasbildner thatsächlich eine Bedeutung für das Aufgehen des Teiges haben oder ob dieses lediglich eine Aeußerung der Gärthätigkeit der Saccharomyceten sei. An der Bedeutung dieser letzteren war nicht mehr zu zweifeln, nachdem mehrere Forscher nachgewiesen hatten, daß sie im Sauerteig regelmäßig auftreten, sich daselbst lebhaft vermehren, und steriles Mehl rasch und intensiv in Gärung setzen. Da aber ein Teig, auch ohne eine einzige Hefezelle zu enthalten, spontan in Gärung gerät, so ist es wahrscheinlich, daß die gasbildenden Spaltpilze des Mehles bei Zufügung von Hefe zum Teig diese in ihrer Wirksamkeit unterstützen werden. In diesem Falle darf man die betreffenden Bakterien stets und in größerer Zahl im Sauerteig erwarten. Es läßt sich nun nicht bestreiten, daß der Sauerteig immer reich ist an Bakterien. Sehr leicht kann diese Thatsache nachgewiesen werden an Hand eines einfachen, mit Methylviolett gefärbten Ausstrichpräparates. In jedem Gesichtsfeld treten meist mehr als 20 Stäbchen verschiedener Länge auf, worunter Formen gleich denen der Gasbildner des Mehles häufig sind. Hefezellen in lebhafter Sprossung fehlen nie. Durch viele Zählungen über-

zeugten wir uns, daß immer wenigstens 4—5mal so viel Bakterien als Hefezellen im Sauerteig vorhanden sind.

Um allgemein giltige Ergebnisse ableiten zu können, war es notwendig, für die Versuche Sauerteigproben zu beschaffen, die unter den verschiedensten Verhältnissen weitergezüchtet waren. Gewiß leben die Organismen des Sauerteiges einer Bäckerei, wo jeden Tag mehrmals gebacken und der Sauerteig im warmen Backraum aufbewahrt wird, unter ganz anderen Existenzbedingungen als in Bauernhäusern, wo 8—14 oder noch mehr Tage verfließen, bis der aufbewahrte Sauerteig, der sogenannte „Hebel“ wieder frischem Gärmaterial einverleibt wird. In den einzelnen Bäckereien resp. Bauernhöfen werden die Bedingungen in der Regel wieder nicht dieselben sein. Durch Unterstützung von Freunden und Schülern wurden wir in die Lage gesetzt, Sauerteig aus räumlich sehr getrennten Gegenden der deutschen Schweiz untersuchen und verarbeiten zu können. Immer wurde darauf geachtet, daß in dem betreffenden Hause dem Teig nie Preß- oder Bierhefe beigefügt wurde. Auf diese Weise erhielten wir Proben, die zum Teil jahrelang weitergezüchtet waren.

1) Untersuchung von Sauerteigproben mittels Plattenkulturen zum Nachweis gasbildender Bakterien vom Typus des Bact. levans.

Als Wolffin mit Sauerteig Gelatineplatten anlegte, fand er nur mit Mühe einzelne Kolonieen von Bact. levans. Er führte diesen Befund auf eine Ueberwucherung der Bakterien durch die Hefe zurück, welch letztere auf der Platte in großer Kolonieenzahl erschien. Wolffin sagt dazu p. 13: „Um nun, durch die Hefe ungestört, die Sauerteigbakterien, welche beim direkten Mikroskopieren so massenhaft in die Augen fallen, reichlicher zur Entwickelung zu bringen, muß man die Sproßpilze eliminieren. Eine starke Einschränkung erfährt die Entwickelung der letzteren, wie ich beobachtete, auf Agarplatten, die sich bei der Bruttemperatur entwickeln; noch reichlicher und reiner erhält man die Spaltpilze, wenn man den im Wasser verteilten Sauerteig in ein Reagenzglas mit Zuckerbouillon bringt und bei 37° C im Brutschrank hält; unter diesen Umständen werden die Sproßpilze in ihrer Entwickelung vollständig unterdrückt, und wenn man von dieser Zuckerbouillon Platten gießt, so erhält man auf das leichteste ausschließlich Kolonieen der im Sauerteig vorkommenden Spaltpilze“.

Was nun die von W. erwähnte Ueberwucherung betrifft, so stößt man bei dem Versuch, sich über diesen Vorgang eine klare Vorstellung zu machen, auf Schwierigkeiten. In der That ist nicht gut einzusehen, wie auf einem festen Nährboden eine Ueberwucherung der Bakterien durch die Hefe möglich sein sollte, da ja Levans auf Gelatine und Agar vorzüglich wächst. Jeder Keim wird dort, wo er hinfällt, zur Entwickelung gelangen. Eine Ueberwucherung auf festen Nährböden ist nur dann denkbar, wenn

zwischen zwei vorhandenen Organismen ein ausgesprochener Antagonismus herrscht. Wird somit auf festen Nährböden Bact. levans durch die Hefe verdrängt, dann wird ein analoger Vorgang sich auch im Sauerteig abspielen, d. h. dann hätte Bact. levans im Sauerteig keine Bedeutung. Wolffin hat diesen naheliegenden Schluß trotz des Umstandes, daß er die größte Mühe hatte, Bact. levans mit Hilfe des Plattenverfahrens nachzuweisen, nicht in Erwägung gezogen, sondern seine Zuflucht zu einem Anreicherungsverfahren genommen. Denn ein solches liegt in ausgesprochener Form vor, wenn W. etwas Sauerteig in Zuckerbouillon giebt, diese im Brutschrank stehen läßt und dann aus der in Gärung geratenen Flüssigkeit das gesuchte Bakterium in großer Menge züchtet. Wenn es ihm auf diese Weise wirklich gelang, Bact. levans nachzuweisen, so lassen doch die betreffenden Versuche keinen Schluß zu über die Häufigkeit des fraglichen Bakteriums im Sauerteig bezw. über die Rolle, die dasselbe bei der Gärung desselben spielt. Irgendwelche genaue Nachweise, daß das Bact. levans im Sauerteig „reichlich konstant“ (l. c. p. 14) auftritt, sind in der Wolffin'schen Arbeit nicht enthalten. Um aber für irgend welchen Organismus die Beteiligung an einem Gärungsprozeß beanspruchen zu können, muß doch vor allem der Nachweis geleistet sein, daß er in dem betreffenden gärenden Substrat in größerer Zahl vorhanden ist; ja, dieser Nachweis an und für sich würde im einzelnen Fall noch nichts für die Beteiligung an einem bestimmten Gärungsprozeß beweisen.

Aus den angeführten Gründen haben wir uns zum Nachweis der Häufigkeit des Bact. levans im Sauerteig des Plattenverfahrens bedient und zwar kamen sowohl Gelatine- als Agarplatten zur Verwendung. Es wurde dabei folgendermaßen verfahren: Eine große Messerspitze voll Sauerteig wurde in 10 ccm sterilem Wasser in steriler Schale verrieben und von dort mit großer Oese abgeimpft. Oder aber, eine Oese mit Teig wurde in Gläschen mit geschmolzener Gelatine verrieben bis eine deutliche Trübung eintrat. Dieses Gläschen lieferte die dichtest besäte Platte. Durch Abimpfung mit großer Oese wurden die beiden anderen Verdünnungen hergestellt. Die Platten bezeichnen wir mit a, b, c, wo c die stärkste Verdünnung repräsentiert. Fast ausnahmslos war nach beiden Impfverfahren die b-Platte die zur Untersuchung geeigneteste. Immer wurden alle Kolonieen, die irgend welche Aehnlichkeit mit Levans oder dem gelben Gasbildner aus Teig hatten, im hängenden Tropfen untersucht und eventuell auf Zuckeragar zur Prüfung der Gärfähigkeit weiter gezüchtet. Die Agarplatten wurden im Brutschrank, die Gelatineplatten bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Aus dem Untersuchungsprotokoll ziehen wir die Befunde für 12 verschiedene Sauerteigproben kurz zusammen:

Sauerteig I (aus einer Bäckerei in Baden). Auf Agarplatten im allgemeinen sehr wenig gewachsen. Levans bildet bei 37° schon in 24 Stunden große Kolonieen. Hier wird nun eine einzige große Kolonie nach 2 Tagen gefunden und zwar von einem beweglichen Langstäbchen. Daneben sind in großer

Zahl punktförmige Kolonieen von Milchsäurebakterien (Typus des Bact. lactis acidi). Einige derselben sind typisch, die Stäbchen zeigen das „Spitzchen" und Ketten von 4 Gliedern, während andere offenbar auch Milchsäurebakterien sind, aber doch nicht als typische Lactis acidi angesprochen werden können. — Auf den Gelatineplatten sieht keine Kolonie aus wie Levans. Die große Mehrzahl der Kolonieen sind Hefe, daneben Lactis acidi, ein Levans-ähnliches Kurzstäbchen, das sich als nicht Levans erweist und ein unbewegliches, fadenbildendes Langstäbchen.

Sauerteig II (aus einer Bäckerei in Wettingen). Neben den vielen Tausend Hefekolonieen treten die wenigen Bakterienkolonieen ganz zurück. Gefunden werden: 1 Kolonie von Bac. megaterium, 1 von einem anderen beweglichen Langstäbchen und einige Kokken von verschiedenen Dimensionen. Nach einem Tage wurden vom gleichen Sauerteig nochmals Platten gegossen und nunmehr blieben die Agarplatten vollständig steril und die Gelatineplatten waren sozusagen Reinkulturen von Hefe.

Sauerteig III (aus einer Bäckerei in Zürich). Agarplatten: a hat 16 Kolonieen von Kokken und unbeweglichen Kurzstäbchen, b und c sind frei von Kolonieen. Bei einer Wiederholung 1 Tag später ist auch a frei von Kolonieen. Gelatineplatten: Kokken, lactis acidi-ähnliche Kurzstäbchen, verflüssigende Langstäbchen. Eine Kolonie ist offenbar Levans; sonst nur Hefe.

Sauerteig IV (aus einer Bäckerei der Umgebung von Baden). Agarplatten: ca. 20 Kolonieen auf a-Platte von Kartoffelbacillus und anderen beweglichen Langstäbchen, Kokken, Schimmelpilzen, einer Streptothrix-Art und einer Kolonie von Levans. Gelatineplatten: Vorwiegend Hefe, daneben Kokken und Milchsäurebakterien.

Sauerteig V (Bäckerei in Baden): Bac. megaterium, Kartoffelbacillus und Bact. lactis acidi. Auf Gelatine fast ausschließlich Hefe neben einigen Kokken. Zahlreiche kleine Kolonieen von Milchsäurebakterien.

Sauerteig VI (Bäckerei in Cham). Agarplatten zeigen im ganzen 2 Kolonieen von Kokken, die Gelatineplatten enthalten anscheinend nur Hefe.

Sauerteig VII (Bäckerei im Toggenburg). Agarplatten: 1 Kolonie von beweglichen Langstäbchen, daneben viele punktförmige von Bact. lactis acidi, die Individuen sind aber kümmerlich ausgebildet, verkrüppelt. Gelatine: ca. 20 größere Bakterienkolonieen von Kokken und nicht Levans-ähnlichen Kurzstäbchen. Daneben nur Hefe und Lactis acidi.

Sauerteig VIII (von einem Bauernhof im aargauischen Seetal). Bakterienflora sehr spärlich. Agarplatten: Im ganzen 3 Kolonieen, 1 von beweglichen Langstäbchen und 2 von Streptothrix. Gelatineplatten: Tausende von Kolonieen von 2 Typen: Etwas größere, oberflächliche, grauliche Scheibchen von 1 mm Durchmesser und kleinere, meist tiefer liegende Punkte. Beide bestehen aus Hefe.

Sauerteig IX (von einem anderen Bauernhofe im Seethal). Agarplatten: Im ganzen 5 Kolonieen, nämlich 1 Schimmelpilz, 1 fadenbildendes, unbewegliches Langstäbchen, 1 bewegliches Langstäbchen und 2 Streptothrix. Gelatineplatten: Keine einzige größere Kolonie, die untersuchten sind sämtlich Hefe.

Sauerteig X (von einem Bauernhof im Frickthale). Agarplatten: a-Platte hat 2 Kolonieen von Streptothrix. Gelatineplatten: Viele Hundert kleine Kolonieen, die sich als Hefekolonieen erkennen lassen. Dazwischen eingelagert sind einige größere, ebenfalls von Hefe derselben Dimensionen.

Sauerteig XI (von einem Bauernhof in der Nähe von Aarau) und Sauerteig XII (von einem Bauernhof im oberen Wynenthal) ergeben winzig kleine Kolonieen von Lactis acidi-ähnlichen und daneben sozusagen nur Hefe. Von Levans-ähnlichen wird wiederum nichts gesehen.

Diese eingehende Untersuchung der Plattenkulturen aus 12 Sauerteigproben verschiedener Herkunft hat zu ganz übereinstimmenden Ergebnissen geführt. In erster Linie fällt auf das starke Zurücktreten der Bakterienflora gegenüber der Hefe. Auf Tausende von Hefekolonieen entfallen einige wenige Bakterienkolonieen und diese letzteren bestehen in den meisten Fällen aus

Formen, die dem Bact. lactis acidi nahe stehen oder mit diesem identisch sind. Was aber am meisten interessiert, ist der Umstand, daß Bact. levans nur in 2 Proben und auch da nur als vereinzelte Kolonie mit einiger Sicherheit nachgewiesen werden konnte.

Die fakultativ anaëroben Gasbildner des Mehles finden sich auf den Sauerteigplatten nur äußerst selten und spärlich.

Die Agarplatten hatten in dieser Beziehung den Gelatineplatten gegenüber keine Vorteile geboten, obwohl auf ihnen die Hefe meistens nicht zur Entwickelung gekommen und so das Feld für die allfällig vorhandenen Levans-Stäbchen frei gegeben war.

Wie schon Wolffin, haben auch wir die Angaben von Peters, der 5 verschiedene Bakterienarten aus Sauerteig isoliert hat und dieselben als für das Zustandekommen der Gärung nicht unwesentlich betrachtet, durchaus nicht bestätigen können. Von allen bei unseren Versuchen gefundenen Bakterien treten einzig die Milchsäurebildner in etwas reichlicherer Menge auf, sodaß die Annahme gerechtfertigt ist, daß alle anderen Spaltpilze für die Teiggärung ganz ohne Bedeutung und als zufällige Bewohner der betreffenden Proben aufzufassen sind.

Die Hefe des Sauerteiges haben wir nicht näher untersucht. Boutroux fand 4 verschiedene Arten, Peters 3 Formen, zu denen mitunter noch eine vierte kam. Die Beschreibungen der beiden Autoren decken sich nicht vollständig. Peters fand Saccharomyces minor[1]) am reichlichsten und Wolffin ausschließlich, während Boutroux sie wohl im Sauerteig eines Bauernhofes, nicht aber in dem der Militärbäckerei von Besançon antraf, wo das Brot auch ohne einen künstlichen Hefezusatz und ohne je Sauerteig aus Civilbäckereien zu verwenden, gebacken wird. Wir haben die Hefe aus den einzelnen Sauerteigproben auf Form und Dimensionen der Zellen geprüft und ziemlich große Variationen bemerkt. Eine so auffallend kleinzellige Hefe wie Sacch. minor (im allgemeinen 3,5 μ Durchmesser, selten bis 6 μ) sein soll, ist uns ein einziges Mal begegnet. Meistens waren die Zellen annähernd kugelig, von 5–6 μ Durchmesser, auch ausgesprochen elliptische Formen wurden angetroffen. Es müßte interessant sein, eine größere Reihe solcher Hefestämme, die ja in ihrer Art auch als Kulturrassen aufzufassen sind, nach den in gärungs-physiologischen Laboratorien gebräuchlichen Methoden genau zu untersuchen und miteinander zu vergleichen.

Wie oben schon erwähnt wurde, stehen unsere an Hand der Plattenkulturen gemachten Befunde in direktem Widerspruch zu den Ansichten Wolffin's, bezüglich der Häufigkeit des Vorkommens von Bact. levans im Sauerteig. Diese Ansicht stützt sich allerdings weniger auf Plattenkulturen als auf den Nachweis des genannten Bakteriums mit Hilfe eines Anreicherungsverfahrens.

---

1) Aufgestellt von Engel, Les ferments alcooliques. [Thèse.] Paris 1872. Citiert nach Boutroux.

Daß dieses Verfahren bei unvorsichtiger Deutung der Versuchsergebnisse unter Umständen zu schweren Irrtümern Veranlassung geben kann, liegt auf der Hand. Immerhin haben wir uns in Anbetracht unserer negativen Plattenergebnisse veranlaßt gesehen, auch einige Versuche mit Anreicherungskulturen durchzuführen. Es war von Interesse, darüber Aufschluß zu bekommen, ob wirklich ein Widerspruch besteht zwischen dem Nachweis von Bact. levans durch Platten einerseits und durch die Anreicherungskultur andererseits. Die Versuche wurden gewöhnlich mit 2-proz. Traubenzuckerbouillon in Gärkölbchen, welche bei 36—37 ° C standen, vorgenommen.

2. Anreicherungskulturen behufs Isolierung des Bact. levans aus Sauerteig.

Zum ersten Parallelversuche dienten 2 Sauerteige A und B aus Bauernhäusern.

a) Gärkölbchen bei 37 °.

In beiden Kölbchen trat schon am ersten Tage sehr heftige Gärung auf, die in 24 Stunden beendigt war. Während die Gärung noch andauerte, wurden aus der Flüssigkeit in der Kugel Gelatineplatten gegossen, deren mikroskopische Untersuchung nach einigen Tagen folgendes ergab:

Sauerteig A: Die Gelatineplatten waren sozusagen Reinkulturen des gelben Gasbildners aus Mehl. Kolonieen von Bact. levans waren nicht zu sehen.

Sauerteig B. Schon eine oberflächliche Betrachtung der Platten zeigte, daß Levans-ähnliche Kolonieen nicht vorhanden sein konnten. Keine einzige Kolonie war auch nur annähernd so groß geworden, wie diejenigen von Levans und dem gelben Gasbildner in der gleichen Zeit werden. Außer einigen Kolonieen von Kokken war die Platte eine Reinkultur von Hefe. Dieser Befund stimmte durchaus mit dem Resultat der früher vorgenommenen direkten mikroskopischen Untersuchung des Gärkölbcheninhaltes überein. Die Hefezellen waren von Kugelform und hatten 6—7 μ Durchmesser.

Nicht auf alle Heferassen aus Sauerteig wirkt Bruttemperatur entwickelungshemmend.

b) Gärkölbchen bei Zimmertemperatur.

Für beide Sauerteigproben war das Gärvermögen viel geringer als bei 37 °. Erst nach 3 Tagen wurde die Gasentwickelung lebhaft und war erst nach 5 Tagen beendigt. Die direkte mikroskopische Untersuchung während der Gärung ließ im Kölbcheninhalt von Sauerteig A sehr zahlreiche Stäbchen bis zu 3 μ Länge, zum Teil mit typischer Levans-Bewegung erkennen. Kölbchen mit Sauerteig B hatte viele der erwähnten großen Hefezellen, daneben aber auch bewegliche Lang- und Kurzstäbchen. Ergebnis der Gelatineplatten:

Sauerteig A. Zahlreiche Kolonieen des gelben Gasbildners aus Mehl, neben, der Zahl nach zurücktretenden verflüssigenden Kolonieen von Bact. fluorescens.

Sauerteig B. Die Platten waren außerordentlich dicht besetzt. a hatte rund 1000000 punktförmige Kolonieen. Auf der weniger dicht besetzten b-Platte war eine Untersuchung leichter. Neben einer großen Menge von Hefekolonieen zeigten sich ziemlich viel gelbe Kolonieen, welche leicht mit den bekannten gelben Gasbildnern verwechselt werden könnten. Sie enthielten ebenfalls Kurzstäbchen, die aber Gelatine leicht verflüssigen und noch aus anderen Gründen unschwer vom gelben Gasbildner zu unterscheiden sind.

Bei den folgenden Versuchen wurde immer nur mit einer geringen Menge von Sauerteig geimpft. Eine kleine Oese voll desselben wurde in der Zuckerbouillon gerieben, bis eine deutliche Trübung aufstieg.

Versuch mit Sauerteig aus einer Bäckerei. Bei 37° war die Gärung auffallend schwach, sodaß sich innerhalb von 3 Tagen nur 3 ccm Gas ansammelten, welche auch nach einer Beobachtungsdauer von mehr als einer Woche nicht mehr zugenommen hatten. Das direkte mikroskopische Bild des Kölbcheninhaltes bot keine beweglichen Kurzstäbchen, sondern fast nur Bac. megaterium. Dem entsprach voll und ganz die Flora der Gelatineplatten mit Kolonieen von Bac. megaterium und mesentericus. Hefe war nicht zu finden. Die entsprechende Probe, bei Zimmertemperatur aufgestellt, vergor langsam aber vollständig und erzeugte 9 ccm Gas in 6 Tagen. Die Gelatineplatten hatten neben einigen großen verflüssigenden Bakterienkulturen nur Hefe.

Die Erklärung für dieses Verhalten ist nicht schwer zu geben: Bei 37° hatte die Hefe gelitten, immerhin konnte sie anfänglich noch etwas gären, während später die Gasbildung völlig unterdrückt wurde. Levans war nicht da, die Gärung war eine reine Hefegärung, weshalb auch die Bouillon stets klar blieb.

Einiges Licht auf die Ursache der Differenzen zwischen unseren und Wolffin's Befunden wirft folgender Versuch: Bouillon mit deutlicher Spur von Sauerteig geimpft, begann bei 37° nicht zu gären, obgleich sich das Impfmaterial kräftig entwickelte. Nach 4 Tagen wurde nochmals mit Sauerteig gleicher Herkunft geimpft und nun trat über Nacht plötzliche, stürmische Gärung ein und zwar war dieselbe durch Levans verursacht. Verimpfung relativ großer Mengen schien also eher Erfolg zu verbürgen.

Zum Schlusse fügen wir noch 3 Versuche mit 3 verschiedenen Sauerteigen an, die wir bezeichnen wollen mit S.-T. I, II resp. III.

Resultat nach 4 Tagen bei 37°.

S.-T. I: Schwache Gärung, $1^1/_2$ ccm Gas.

S.-T. II: Keine Gärung, aber deutliches Wachstum. Offenbar

ist die Hefe gewachsen, kann aber wegen der hohen Temperatur nicht gären.

S.-T. III: Keine Gärung, aber Wachstum.

Resultat nach 6 Tagen bei 37°.

S.-T. I: Gärung vom 5. auf den 6. Tag von $1^1/_2$ auf $4^1/_2$ ccm angewachsen. Abwesenheit von Levans-ähnlichen, hingegen war Hefe massenhaft vorhanden. Im Kölbchen sah sie nicht gesund aus, sondern ihr Inhalt war stark körnig. Hier war die Hefe also doch der Gärungserreger, aber es verging eine gewisse Zeit, bis sie gären konnte.

S.-T. II: Vom 5. auf den 6. Tag ist plötzlich kräftige Gärung eingetreten, sodaß über Nacht 5,2 ccm Gas frei wurden. Ebenfalls Abwesenheit von Levans-ähnlichen, dafür massenhaftes Vorkommen von Hefe.

S.-T. III: Auch nach 10 Tagen noch keine Gärung trotz deutlichen Wachstums.

Diese Befunde könnten wir noch durch weitere Versuche mit anderen Sauerteigproben belegen. Nur in ganz seltenen Fällen waren Bakterien die Gärungserreger. Die Heferassen verhielten sich bei Bruttemperatur sehr verschieden. Neben solchen, bei denen eine nachteilige Beeinflussung ihrer Wirkungsweise nicht merkbar war, fanden sich wieder solche, welche nur spärlich oder erst nach einigen Tagen gären konnten und solche, welche sich als absolut gärungsunfähig erwiesen.

Somit würde sich aus diesen Versuchen ganz dieselbe Folgerung ableiten lassen, zu welcher uns schon die Plattenkulturen geführt hatten und welche dahin lautet, daß gasbildende Kurzstäbchen sich im Sauerteig nur selten und auch dann nur in sehr geringer Zahl finden lassen.

Demgegenüber stehen die Befunde von Wolffin, welcher wenigstens bei Anwendung des Anreicherungsverfahrens mit großer Konstanz Bact. levans aus Sauerteig isolieren konnte. Wie klärt sich dieser Widerspruch auf?

Einmal muß erwähnt werden, daß Wolffin seine Sauerteigproben immer aus denselben 2 Würzburger Bäckereien bezogen hat. Dieser Umstand bedingt eine gewisse Einseitigkeit in der Beschaffenheit des Ausgangsmaterials, welche den aus den Versuchen gezogenen Schlüssen nicht die allgemeine Giltigkeit sichert, welche unsere mit einer größeren Zahl von Sauerteigproben verschiedenster Provenienz gewonnenen Resultaten beanspruchen dürfen. Indessen glauben wir nicht, daß die Differenzen darin ihre Erklärung finden. Wir haben vielmehr Ursache, anzunehmen, daß die Würzburger Sauerteigproben ungefähr dieselben Eigenschaften wie die unserigen aufgewiesen haben. Wenn W. mit Leichtigkeit in allen untersuchten Sauerteigproben Bact. levans nachzuweisen imstande war, so könnte dies darauf zurückzuführen sein, daß er einerseits die Teigproben im ganz frischen Zustande, unmittelbar nachdem sie aus der Bäckerei bezogen waren, verarbeitet und daß er bei der

Impfung in Zuckerbouillon relativ große Mengen verwendet hat. Beide Umstände sind geeignet, den positiven Ausfall des Isolierungsversuchs eher zu sichern. Bezüglich des ersteren ist in Betracht zu ziehen, daß beim Vermehren des Sauerteiges, auch wenn dieser frei von gasbildenden Bakterien sein sollte, mit dem verwendeten Mehl unbedingt eine gewisse Anzahl von Keimen des „Gelben“ und des „Weißen“ in den Teig gelangen und daß die Wahrscheinlichkeit, von diesen Keimen mit Hilfe des Anreicherungsverfahrens einen zur Anschauung zu bringen, um so größer ist, je weniger lange man mit der Verimpfung wartet. Unsere Teigproben konnten nur in Ausnahmefällen in ganz frischem Zustande verarbeitet werden, diejenigen aus Bauernhäusern hatten sogar gewöhnlich ein Alter von 1—2 Wochen. Der zweite genannte Umstand, der darin besteht, daß mit größeren Mengen Impfmaterials, z. B. mit einer großen Oese voll desselben eine Anreicherung eher möglich gemacht wird als mit einer kleineren Menge, z. B. einer kleinen Oese voll, wirft allerdings ein etwas bedenkliches Licht auf die Häufigkeit des Bact. levans oder verwandten Arten im Sauerteig.

Immerhin war nach dem Gesagten die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß wir bei Verwendung frisch vermehrter Teigproben Resultate erhalten hätten, die denjenigen von Wolffin besser entsprochen, und da die Frage, ob sich im vergorenen Sauerteige gasbildende Bakterien finden, weniger wichtig ist, als die Frage, ob bei der Gärung des mit Sauerteig vermehrten Teiges gasbildende Bakterien im Spiele sind oder sich während der Gärung in größerer Menge nachweisen lassen, so lag uns noch die Aufgabe ob, die Flora in verschiedenen Stadien der Sauerteiggärung zu untersuchen. Dabei war besonders Rücksicht auf die allerersten Anfänge der Gärung zu nehmen; denn da unsere früheren Versuche ergeben hatten, daß die gasbildenden Bakterien nicht nur in älteren, sondern auch in relativ jungen Sauerteigen nicht vorkommen, war daran zu denken, daß eine Entwickelung derselben im Anfangsstadium der Gärung stattfindet und daß beim Fortschreiten derselben vielleicht durch eine antagonistisch wirkende Kraft der Hefe oder durch schädigende Wirkung der Gärprodukte eine Abtötung erfolgt.

3. Die im Verlaufe der Gärung des Sauerteigs auftretende Pilzflora.

Die hierauf bezüglichen Versuche sind folgendermaßen ausgeführt worden: Es wurde eine Menge von 2—3 g Sauerteig mit 60 g Mehl und dem nötigen Wasser zu einem Teige verarbeitet, dieser bei Zimmertemperatur stehen gelassen und von Zeit zu Zeit mit einer kleinen Oese, die immer möglichst gleichmäßig beladen war, Material für Plattenaussaaten entnommen, um an Hand derselben das Verhältnis der verschiedenen zur Entwickelung gelangten Organismen feststellen zu können. Selbstverständlich kam für die Aussaat nur Material aus dem Innern des Teiges,

der vorher mit sterilem Messer geteilt worden war, zur Verwendung.

I. Versuch.

Auf allen Platten, die vor, während und nach der Gärung[1]) besät wurden, war der Gehalt an Bakterienkolonieen, abgesehen von den winzig kleinen Kolonieen der Milchsäurebakterien, ein sehr geringer und fortwährend abnehmender. Alle Kolonieen, welche irgend welche Aehnlichkeit mit den beiden Gasbildnern des Mehles hatten, wurden sorgfältig mikroskopisch untersucht und event. auf ihr Verhalten gegen zuckerhaltige Nährböden geprüft. Zur Zählung wurde immer die a-Platte, d. h. diejenige mit der geringsten Verdünnung, herbeigezogen. Mehr als 20 größere Bakterienkolonieen waren auf keiner Platte zu sehen. Während des ersten Stadiums der Gärung traten einige Kolonieen auf, welche große Aehnlichkeit mit denen des gelben Gasbildners hatten und auch bewegliche Kurzstäbchen derselben Dimensionen enthielten. Sie konnten aber Zucker nicht vergären und erwiesen sich bei näherer Prüfung als identisch mit jener Bakterienart, die Burri[2]) kürzlich etwas näher charakterisierte und die ein regelmäßiger Bewohner oberflächlicher Pflanzenteile der verschiedensten Art sein soll. Bezüglich der interessanten Ausführungen über den mutmaßlichen Zusammenhang dieses Bakteriums mit den Knöllchenbakterien der Leguminosen sei auf die unten citierte Abhandlung verwiesen.

Das gegenseitige Verhältnis zwischen Hefen und gasbildenden Bakterien geht aus folgender Zusammenstellung hervor:

	Hefekolonieen	Gasbildende Bakterien
2 Stunden nach dem Kneten	1 840	0
4 " " " "	1 424	0
6 " " " "	11 744	0
24 " " " "	ca. 32 000	0
26 " " " "	ca. 50 000	0
48 " " " "	ca. 200 000	0

Obwohl bei der Aussaat auf die Platten nicht von genau gemessenen Quantitäten des Teiges ausgegangen wurde, so läßt der Versuch doch sehr schön erkennen, wie die Hefe allmählich sich vermehrt. In Uebereinstimmung mit den Zahlen war beginnende Gärung erst 6 Stunden nach dem Kneten deutlich nachweisbar.

II. Versuch.

Derselbe ist unter ähnlichen Verhältnissen ausgeführt und

1) Der Ausdruck „Gärung" ist hier im Sinne von Gasentwickelung bezw. Aufgehen des Teiges gebraucht.
2) Burri, Die Stickstoffernährung der Leguminosen und die Knöllchenbakterien. (Schweiz. landw. Centralblatt. 1902.)

hat bezüglich der Bethätigung gasbildender Organismen dasselbe Resultat ergeben.

	Hefekolonieen	Gasbildende Bakterien
0 Stunden nach dem Kneten	476	0
2 " " " "	952	0
4 " " " "	752	0
6 " " " "	1 040	0
8 " " " "	1 040	0
10 " " " "	2 320	0
33 " " " "	ca. 50 000	0

III. Versuch.

Bei diesem wurde zu einem wie bisher mit Zusatz von Sauerteig hergestellten Teig noch ein zweiter aus demselben Mehle, aber ohne Zusatz von Sauerteig bereitet, um die Entwickelung der Flora bei der spontanen Gärung vergleichend mit derjenigen der Sauerteiggärung verfolgen zu können. Leider war die Temperatur im Versuchsraume anhaltend eine sehr niedrige, 10° C kaum übersteigende, wodurch der Beginn der Gärung verzögert wurde, wie aus den folgenden Tabellen zu entnehmen ist.

a) Spontane Teiggärung.

	Hefe	Gasbildende Bakterien	Nicht gasbildende Bakterien.
0 Stunden nach dem Kneten	0	0	780
8 " " " "	0	0	152
24 " " " " (Schwach beginnende Gärung)	0	160	224

b) Sauerteiggärung.

	Hefe	Gasbildende Bakterien	Nicht gasbildende Bakterien
0 Stunden nach dem Kneten	560	0	1
4 " " " " (keine Gärung)	1 376	0	0
8 " " " " (keine Gärung)	992	0	0
12 " " " " (beginnende Gärung)	4 000	0	0
16 Stunden nach dem Kneten (starke Gärung)	5 000	2	0

Unter den „nicht gasbildenden“ Bakterien sind alle die Kolonieen zusammengefaßt, welche nicht als solche der beiden früher beschriebenen Gasbildner des Teiges sich erwiesen. Nicht mitgezählt sind die nur mit der Lupe sichtbaren Kolonieen von Milchsäurebakterien.

Trotz der ungünstigen Verhältnisse, unter denen der Versuch ausgeführt worden, sind die Ergebnisse in unzweideutigem Sinne

ausgefallen. Zunächst hat sich die überraschende Thatsache gezeigt, daß die namentlich an verflüssigenden Arten reiche Bakterienflora des nicht mit Sauerteig versetzten Mehles unmittelbar nach dem Kneten des Teiges, aber auch während der folgenden 24 Stunden erhalten bleibt und auf den Platten zum Ausdruck kommt, während in demselben Mehl unmittelbar nach dem Kneten mit Wasser und Sauerteig die gesamte Bakterienflora beinahe vollständig abgetötet erscheint. Das letztere ist übrigens nur eine Bestätigung der bei Versuch I und II gemachten Befunde. Was speziell die gasbildenden Bakterien betrifft, so ist bei dem spontan gärenden Teig die Vermehrung verhältnismäßig spät erfolgt, konnte aber mit aller Deutlichkeit durch die Platten nachgewiesen werden. — Wenn bei dem mit Sauerteig bereiteten Teig 16 Stunden nach dem Kneten neben 5000 Hefekolonieen sich noch 2 Kolonieen gasbildender Bakterien finden, so dürfte dieser Umstand kaum geeignet sein, die Klarheit des Versuchsergebnisses zu trüben. Abgesehen davon, daß diese 2 Kolonieen als zufällige Verunreinigung (z. B. von der Außenfläche) auf die Platte gelangt sein können, ist eine Erklärung des Vorkommens auch aus der niedrigen Versuchstemperatur möglich, wie sich aus dem Zusammenhang mit späteren Erläuterungen ergeben wird.

Nur ein Typus von Bakterienkolonieen war auf allen Platten auch neben Hefekolonieen in mehr oder weniger ansehnlicher Zahl vertreten. Es waren kleinste, von Auge kaum sichtbare Pünktchen, die sich aus Elementen, welche dem Bact. lactis acidi entsprechen, zusammengesetzt erwiesen.

Die 3 Versuche über die Flora des Sauerteiges in verschiedenen Stadien der Gärung haben mit aller Deutlichkeit ergeben, daß bei der Vermehrung desselben die mit dem Mehl und dem Wasser in den neuen Teig gelangten Bakterien sich mit Ausnahme der Milchsäurebakterien vom Typus des Bact. lactis acidi nicht vermehren, sondern nach kürzester Zeit vernichtet werden. Diese Vernichtung betrifft auch die Gruppe der fakultativ anaëroben Gasbildner, speciell Bact. levans, den „gelben“ Gasbildner und verwandte Arten.

Bact. levans kann demnach mit der Sauerteiggärung nichts zu thun haben. Die Sauerteiggärung ist, soweit man darunter die durch Gasentwicklung bewirkte Lockerung und Volumvermehrung des Teiges versteht, eine reine Hefegärung.

Bei einer Durchsicht der Arbeit von Wolffin wird man ohne Mühe gewahr, daß in derselben ebenso viele Daten für unsere eben erwähnte Schlußfolgerung als gegen dieselbe sprechen. Schon der Umstand, daß auf Platten die Kolonieen von Bact. levans nicht zum Vorschein kommen wollten, sprach in erster Linie dafür, daß die betreffenden Keime eben nicht vorhanden waren. Auf p. 38 teilt W. Gasanalysen von Sauerteig mit, die direkt auf Hefegärung hinwiesen, was auch dem Versuchsansteller Anlaß zu Bedenken gegeben hat. Er kommt nämlich p. 39 zu dem Schlusse: „Praktisch ist somit bei jeder Teigbereitung, bei der ein Zusatz

von Hefe oder Sauerteig stattfindet, die Hefe das lockernde Agens . . . . ." Merkwürdigerweise findet sich 3 Zeilen weiter unten folgender Passus: „Nachdem wir die im Sauerteig vorkommende Flora untersucht und in Saccharomyces minor und Bact. levans die einzig für die Gärung wichtigen Organismen[1]) erkannt haben . . . ."

Papasotiriu hat ebenso wie Fraenkel den Sauerteig nicht mit Hilfe des Plattenverfahrens auf seine Flora untersucht, sondern nach demselben Anreicherungsverfahren gearbeitet wie Wolffin. Von dem Gedanken ausgehend, daß Bact. levans, das nachweislich in jedem Mehl enthalten ist, sich dementsprechend schon an der Oberfläche der Getreidekörner finden müsse, hat derselbe die Körner und Samen verschiedener Cerealien und Leguminosen mit Hilfe des mehrfach erwähnten Anreicherungsverfahrens untersucht und nicht einmal in allen Fällen mit Erfolg. — Die Schlußfolgerung von Papasotiriu, es sei das Bact. coli als Organismus der Sauerteiggärung zu betrachten, ist in zweifacher Hinsicht hinfällig, denn

1) konnten wir zeigen, daß die bei der spontanen Mehlgärung thätigen Bakterien mit Bact. coli nicht identifiziert werden dürfen, und

2) ging aus unseren Untersuchungen zweifellos hervor, daß die die spontane Teiggärung auslösenden, in gewissem Sinne coliähnlichen Bakterien im Sauerteig keine Rolle spielen, sondern abgetötet werden.

Wo liegt nun der Schlüssel zum Verständnis der eigentümlichen Erscheinung, daß Wolffin seine Ergebnisse fleißiger Untersuchungen in einer Weise auslegen konnte, die genau dem Gegenteil von der Wirklichkeit entspricht? Die folgenden Ausführungen werden alles nötige Licht in diese Frage bringen, und es sei hier schon hervorgehoben: W. war von Anfang an in einem großen Irrtum befangen, indem er annahm, die in jeder Sauerteigprobe leicht nachweisbaren Stäbchen seien identisch mit dem in spontan gärenden Teigen regelmäßig in großer Menge auftretenden Bact. levans. Diese Annahme war ja ziemlich naheliegend, aber sie war eben trügerisch. Aus ihr entstand jene schon früher besprochene, ebenfalls irrtümliche Annahme einer Ueberwucherung der Bakterien durch die Hefe und die damit verbundene Selbsttäuschung bezüglich der Häufigkeit des Bact. levans im Sauerteig auf Grund von bloßen Anreicherungsversuchen.

Wir hatten in zahlreichen Fällen festgestellt, daß auf Gelatineplatten, die mit Sauerteigproben verschiedenen Alters hergestellt waren, außer Milchsäurestäbchen vom Typus des Bact lactis acidi sich keine anderen Bakterien entwickelten, wohl aber Hefe in großer Kolonieenzahl. Andererseits zeigt eine mikroskopische Untersuchung der Sauerteigproben im hängenden Tropfen oder im gefärbten Präparat regelmäßig eine große Zahl von Stäbchen, die mit den kleinen, oft kokkenartigen erwähnten Milchsäurebakterien

1) In Wolffin's Arbeit nicht gesperrt.

offenbar nichts zu thun haben. Besonders im gefärbten Präparat ergiebt sich bei aufmerksamer Durchmusterung deutlich, daß die Zahl dieser Stäbchen, welche im Mittel eine Länge von 3—4 μ haben, die der Hefezellen um ein mehrfaches übertrifft. Man könnte nun glauben, in diesen Stäbchen sei die abgetötete Pilzflora des Mehles und Wassers enthalten, doch ist die Zahl der Stäbchen dafür viel zu groß, und es kann leicht bewiesen werden, daß es sich um lebende Bakterien handeln muß. Man stellt sich zu diesem Zweck aus Mehl und Wasser nebst etwa 5 Proz. Sauerteig einen Teig her und untersucht unmittelbar nach dem Kneten aus verschiedenen Stellen der Masse ein Präparat mit oder ohne Zuhilfenahme der Färbung. Man ist überrascht über die geringe Zahl von Bakterien. Im ganzen Gesichtsfeld des Mikroskopes entdeckt man gewöhnlich höchstens eine Spaltpilzzelle. Läßt man den Teig im warmen Zimmer, z. B. vom Abend bis zum folgenden Morgen stehen, so wird er aufgegangen sein, und jetzt zeigt eine mikroskopische Untersuchung in der Regel per Gesichtsfeld mit Leichtigkeit 15—20 wohlausgebildete Stäbchen von oben genannter mittlerer Länge.

Mit der Sauerteiggärung ist eine reichliche Vermehrung stäbchenförmiger Bakterien verbunden, die nicht zum Typus des Bact. lactis acidi gehören.

Auf den Gelatine- und Agarplatten waren bis jetzt solche Stäbchen nicht gesehen worden, auch hätten die betreffenden Kolonieen zahlreicher sein müssen als die Hefekolonieen. Um dieser Stäbchen habhaft zu werden, war unter den gegebenen Verhältnissen nahe liegend die

4. Prüfung des Sauerteiges auf Anaëroben.

Für diesen Zweck benutzten wir ausschließlich die von R. Burri[1]) modifizierte Methode der „Kultur in hoher Schicht".

Als Nährboden diente 2-proz. Traubenzuckeragar. Die Kulturen wurden bei 30° gehalten. Zur Erlangung geeigneter Verdünnungen bewährte sich folgendes Impfverfahren: Eine große Oese voll Sauerteig aus der Mitte der Probe wurde in 10 ccm sterilem Wasser bezw. über dem Wasserniveau an der Glaswand gerieben und das gut zerteilte Material durch Schiefhalten des Gläschens hinuntergeschwemmt, bis das Wasser weißlich getrübt war. Von diesem Gläschen aus wurde nun abgeimpft auf den Nährboden, der auf 42° abgekühlt war, und zwar erhielt das erste Gläschen 2 große Oesen der Aufschwemmung. Von hier wurde mit der großen Oese je einmal das zweite und von diesem das dritte Gläschen geimpft.

Zunächst suchten wir zu ermitteln, ob vielleicht ein sporenbildender anaërober Bacillus im Spiel sei. Zu diesem Zwecke wurden die geimpften Gläschen während 20 Minuten zum Abtöten der vegetativen Formen auf 80° erhitzt. Auf diese Weise wurden

1) Burri, Zur Isolierung von Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. II. Abt. Bd. VIII. 1902. No. 17.)

entweder keine oder nur vereinzelte Kolonieen erhalten und diese gehörten meist fakultativ anaëroben Vertretern der Kartoffelbacillengruppe an. Im Mehl sind ja natürlich immer vereinzelte Sporen vorhanden, wie sich aus den mit Mehl direkt angelegten Gelatine- oder Agarplatten nach der Art der sich entwickelnden Kolonieen leicht entnehmen läßt.

Obligat anaërobe Sporenbildner scheinen normalerweise im Sauerteig nicht in nennenswerter Menge vorhanden zu sein.

Es wurden in der Folge die Isolierungsversuche nur mit Rücksicht auf das Vorhandensein nicht sporenbildender Arten ausgeführt.

Bei den Kulturen in hoher Schicht in Traubenzuckeragar war nach 2—3 Tagen bei 30° jeweilen deutliches Wachstum sichtbar. Kolonieen fanden sich in so großer Menge, daß das b-Röhrchen in der Regel noch einige Hundert enthielt[1]). Ein Vorversuch mit Sauerteig aus einer Bäckerei in Cham lieferte 3 Gruppen von Kolonieen:

1) Größere Kolonieen: Bact. lactis acidi.

2) Winzig kleine, „wollige“ Kolonieen, in der größten Zahl vorhanden, von bis 20 μ langen, fadenbildenden, unbeweglichen Langstäbchen gebildet.

3) Mittelgroße Kolonieen, ebenfalls in großer Menge, von Stäbchen, welche das gleiche Bild lieferten, das wir immer bei direkter Untersuchung von Sauerteig erhalten hatten. Sie waren ausgezeichnet durch eine große Variation in der Länge, zum Teil kettenbildend, wie das auch beim gefärbten Sauerteigpräparat sofort in die Augen fällt. Die Länge der Stäbchen schwankte von $1^1/_2$—4 und mehr μ, die Dicke von 0,75—1 μ. Viele derselben hätten den äußeren Formen nach mit Bact. levans verwechselt werden können, nur waren sie absolut unbeweglich.

Es war klar, daß in der dritten Gruppe der bei der direkten Untersuchung des Sauerteiges beobachtete Organismus gefunden war, und es erhob sich die Frage, ob die unter 1 und 2 aufgezählten Formen im Sauerteig anderer Herkunft auch zu finden seien. Es sollte nun eine größere Reihe von Proben nach dem erwähnten einfachen Anaërobenverfahren, das, nach dem Vorversuch zu schließen, für den Zweck ausgezeichnet geeignet war, verarbeitet werden. Auch bei diesen Untersuchungen wurde viel Wert darauf gelegt, Sauerteig aus den verschiedensten Verhältnissen herbeizuziehen, was uns in erfreulichem Maße gelang.

---

1) Quantitative Bestimmungen haben wir nicht vorgenommen, doch läßt sich aus vorstehenden Angaben leicht ermessen, daß es sich um große Keimzahlen handeln muß, wenn die Verdünnung b noch mehrere Hundert Kolonieen enthielt. Rechnen wir die große Oese zu 10 mg, so waren im Gläschen a, das 10 ccm Agar enthielt, das 1000-fache an Keimen enthalten, also mehrere Hunderttausende. Nun stammten diese aus 2 Oesen der Aufschwemmung von 10 ccm, welche mit höchstens 1 g Sauerteig hergestellt war und demnach mindestens einige Millionen Keime enthielt.

Sauerteig I (von einem Bauernhof im Frickthal). Das geimpfte Wasser, direkt im hängenden Tropfen untersucht, zeigte die bekannten, etwas plumpen und verschieden langen Stäbchen in viel größerer Menge als Hefezellen. Unter den Kolonieen der Anaërobenröhrchen fanden sich nur 2 Gruppen, die sich nach der Größe unterschieden. Die „wolligen“ aus dem Sauerteig Cham fehlten. Die kleineren Kolonieen bestanden aus lactis acidi-Formen, während die größeren durch Stäbchen gebildet wurden, die ganz denjenigen entsprachen, die aus dem Sauerteig Cham isoliert worden waren. Aus einer solchen Kolonie wurden nun nochmals Kulturen in hoher Schicht in Traubenzuckeragar angelegt und so eine Reinkultur erhalten. Die Stäbchen wuchsen kräftig, die Länge derselben schwankte zwischen 1—6 μ.

Sauerteig II (aus einem Bauernhof im aarg. Wynenthal). Bezüglich der Zeit der Entwickelung und Zahl der Kolonieen boten die Kulturen ein ähnliches Bild wie Sauerteig I. Röhrchen a war zu dicht bewachsen, um bequem untersucht werden zu können, Röhre b bot Kolonieen in günstiger Verteilung. Eine Untersuchung einer solchen im hängenden Tropfen entsprach indessen nicht der Erwartung. An Stelle der schönen, regelmäßig geformten Stäbchen, wie man sie in gärendem Sauerteig sieht, fanden sich nur kurze, gedrungene und oft etwas bauchig verdickte Formen von $1^1/_2$—2 μ Länge und ca. 1 μ Dicke. Kürzere Kettchen waren häufig und bestanden oft aus geradezu kokkenähnlichen Elementen. Stäbchen, den spezifischen Sauerteigstäbchen entsprechend, von 3—4 μ Länge und annähernd 1 μ Dicke fehlten jedoch nicht ganz im Präparate, ja, sie konnten in Zusammenhang mit den gedrungenen, gedunsenen, etwas an Involutionsformen erinnernden Gebilden gesehen werden. Dieser Umstand sprach dafür, daß wir eine durch irgend welche Einflüsse entstandene atypische Form der spezifischen Sauerteigstäbchen vor uns hatten. Wir ließen es übrigens bei der Untersuchung der einen Kolonie nicht bewenden, sondern es wurde eine ganze Reihe untersucht, ohne jedoch auf solche zu stoßen, die nur aus normalen Stäbchen gebildet gewesen wären. Ueber die Ursachen dieses Verhaltens waren wir vorläufig nicht imstande, eine Erklärung zu geben.

Sauerteig III (aus einem Bauernhof der Umgebung von Aarau). Was für II gesagt worden ist, gilt auch hier. Die weitaus vorherrschende Zahl der Kolonieen wurde gebildet aus verkürzten und dabei oft etwas verdickten, zum Teil in Ketten auftretenden Stäbchen. Nur selten ließ sich eine längere, regelmäßig gebaute Bakterienzelle nachweisen. Die Umwandelung der letzteren in atypische Formen schien übrigens in den einen Kolonieen in höherem Grade als in anderen stattgefunden zu haben. Daß es sich um eine solche Umwandelung handelte und nicht etwa um Sauerteigproben, deren Bakterienflora im Gegensatz zu den anderen bisher untersuchten Proben aus auffallend kurzen Formen bestand, bewies die direkte Untersuchung der Originalproben, welche die typischen Stäbchen in großer Zahl enthielten. Man hätte nun annehmen können, daß die Verpflanzung der Stäbchen aus dem sauren Teig in das alkalische Zuckeragar jene Beeinflussung der Form hervorzurufen imstande war. Demgegenüber muß aber betont werden, daß alle anderen Sauerteigproben unter denselben Umständen in Zuckeragar schöne, normale Stäbchen entwickelt haben. Ein Wechsel des zur Isolierung benützten Nährmediums, nämlich der Ersatz des alkalischen Zuckeragars durch ein schwach milchsaures Molkenagar, hatte thatsächlich bei den Proben II und III nicht besseren Erfolg. — Die Eigenschaft derselben, bei der Isolierung in Zuckeragar Kolonieen mit vorwiegend verkürzten, zum Teil sogar etwas krüppelhaft aussehenden Stäbchen zu bilden, blieb an diesen Teigproben haften, wie folgender Versuch erweist: Probe III war mehrfach vermehrt worden und bei Herstellung des Vermehrungsteiges waren immer möglichst geringe Mengen des Sauerteiges zur Verwendung gelangt. Es war also anzunehmen, daß von den in der Originalprobe enthaltenen Stäbchen keine mehr in den mehrfach vermehrten Teigkulturen waren, sondern nur Nachkommen derselben der so und sovielten Generation. Der letzte Vermehrungsteig wurde im Alter von 12 Stunden, als er schön aufgegangen war, im hängenden Tropfen untersucht. In jedem Gesichtsfeld zeigten sich mindestens 20 schön regelmäßige Stäbchen von einer mittleren Länge von 3—4 μ. Kaum eine kurze Form war dazwischen zu finden. Dieser Teig wurde nun auf Kulturen in hoher Schicht verarbeitet. Die auch im b-Röhrchen noch zu Hunderten gewachsenen Kolonieen zeigten bei näherer Untersuchung kein von dem früheren wesentlich abweichendes Verhalten, d. h. schön ausgebildete Stäbchen waren nur selten zu finden, an Stelle derselben

gedrungene, zum Teil gedunsene Formen, die oft zu langen Ketten vereinigt waren. Weiter haben wir uns mit dieser eigentümlichen Erscheinung nicht beschäftigt, wir betrachten sie als einen Ausdruck für die thatsächlich vorhandene große Variabilität der Bakteriengruppe, zu welcher die spezifischen Sauerteigstäbchen gehören.

Sauerteig IV (aus einer Bäckerei in Wettingen). Im a-Röhrchen waren neben einer großen Menge von kleineren, graulichen Kolonieen mehrere große, weißliche, runde. Diese letzteren stammten von einem Coccus her. Im übrigen schienen die Röhrchen Reinkulturen zu sein. Mikroskopischer Befund analog demjenigen von Sauerteig Cham und I, d. h. in den Kolonieen fanden sich nebeneinander regelmäßige Stäbchen von sehr verschiedener Länge. Schon im geimpften Wasser waren ohne Färbung zahlreiche typische Sauerteigstäbchen neben weniger Hefezellen wahrnehmbar gewesen.

Sauerteig V (Bäckerei Neuenhof bei Baden). Die Kulturen machten einen sehr gleichmäßigen Eindruck und die nähere Untersuchung ergab, daß sozusagen eine Reinkultur vorlag. Alle untersuchten Kolonieen lieferten das gleiche Bild, nämlich wiederum die bekannten Stäbchen von verschiedener Länge.

Sauerteig VI (Bäckerei in Baden). Direkte Untersuchung der Aufschwemmung in Wasser: kurze, kettenbildende Stäbchen fehlten vollständig, während im übrigen das gewöhnliche Bild der Sauerteigpräparate erhalten wurde. Gerade Stäbchen von verschiedener Länge, die im Mittel 3—4 μ betrug, wurden zahlreich gesehen.

Die Kulturröhrchen schienen, mit unbewaffnetem Auge untersucht Reinkulturen von zahlreichen Kolonieen von ca. $^1/_2$ mm Durchmesser zu sein. Die Stäbchen variierten in der Dicke von 1—$1^1/_4$ μ, in der Länge von 1—7 μ. Es wurden Kolonieen angetroffen, bei denen die Mehrzahl der Stäbchen eine Länge von 3—4 μ erreichte. In anderen Kolonieen wieder waren vorwiegend auffallend kurze Formen von $1^1/_2$ μ Länge und 1 μ Dicke vertreten. In diesen wurden dann auch Ketten von 3—4 Gliedern beobachtet. Im allgemeinen waren längere Stäbchen spärlicher, fehlten aber in keiner Kolonie. Sie waren häufig etwas verkrüppelt oder verkrümmt. Ferner erschienen unter dem Mikroskop auf dünnen Schnitten durch den Zuckeragarcylinder in der Minderzahl winzige, „wollige“ Kolonieen, die ihren Ursprung langen, unbeweglichen, dünnen, fadenbildenden Stäbchen verdankten. Aehnliches war seiner Zeit in dem Sauerteig einer Bäckerei in Cham gefunden worden.

Sauerteig VII (Bauernhof im aarg. Seethal). Entschiedenes Vorherrschen der kürzeren Stäbchen. In den Dimensionen der Stäbchen trat innerhalb einer und derselben Kolonie eine Mannigfaltigkeit auf, wie sie bei den bisher untersuchten Proben noch nicht vorgekommen war. Mehr als die Hälfte der Stäbchen erreichte eine Länge von nur 1,5—2 μ. Im gleichen Gesichtsfeld waren aber jeweils auch Stäbchen von 3, 4 oder 5 μ, ja von 6 oder mehr μ zu sehen. An langen Stäbchen hingen oft ganz kurze. Kettenbildung häufig. Variation in der Dicke von 0,8—1 μ, das letztere Maß wurde selten erreicht. Neben Kolonieen, wo längere Stäbchen spärlich auftraten, fanden sich auch wieder solche, wo die langen Formen in der Mehrzahl waren, in diesem Falle fehlten aber ganz lange und 5 μ wurden nicht überschritten. Kolonieen mit ausschließlich kurzen Formen gab es nicht.

Sauerteig VIII (von einem anderen Bauernhof im Seethal). Im allgemeinen waren die Stäbchen dicker und länger als in Probe VII. In der Regel betrug die Dicke ca. 1 μ. Wiederum waren alle Uebergangsformen von $1^1/_2$—6 μ Länge mit Leichtigkeit nachweisbar, wobei die meisten 3—4 μ maßen und kürzere der Zahl nach stark zurücktraten, aber doch auf jedem Gesichtsfeld erschienen. Vereinzelte Stäbchen waren 8, ja 10 und mehr μ lang. An langen hingen oft ganz kurze, so fanden wir solche von 8 μ verbunden mit solchen von kaum 1 μ. Kettchenbildung wurde auch wahrgenommen, sie war aber in den Kolonieen um so seltener, je länger die Stäbchen waren.

Sauerteig IX (von einem anderen Bauernhof im Seethal). Unter den Stäbchen herrschten längere Formen vor, die Mehrzahl hatte eine Länge von 4—5 μ, doch traten ausnahmsweise sogar Stäbchen von 15 μ Länge auf. Formen von 2 μ waren auf jedem Gesichtsfeld häufig, während kürzere selten erschienen. Kettenbildung beobachtet.

Sauerteig X (aus einem Bauernhof in der Umgebung von Aarau). Nach 2 Tagen wiesen Röhrchen a und b starke Gärung auf. Als Erreger der-

selben wurde ein fakultativ anaërobes, bewegliches Stäbchen isoliert von 5—6 μ Länge und ca. 1 μ Dicke. Seine Kolonieen haben ein ähnliches Aussehen wie die der bekannten Sauerteigstäbchen, sind aber für das Licht stärker durchscheinend. Das Stäbchen wurde in Reinkultur gewonnen und in einigen Beziehungen näher untersucht. Es hat in hohem Maße die Fähigkeit, Traubenzucker zu vergären. Die Befunde auf mehreren Nährböden, namentlich auch auf stärkehaltigen, sprechen dafür, daß das Stäbchen offenbar im Teige keine wichtige Funktion ausübt. — Von den spezifischen Sauerteigstäbchen waren zahlreiche kleine, weiße Kolonieen von weniger als $^1/_2$ mm Durchmesser vorhanden. Lange und kurze Stäbchen schienen darin ungefähr in der gleichen Zahl vertreten zu sein. Länge $1^1/_2$—8 μ, noch längere Stäbchen selten, am häufigsten waren solche von 3—4 μ. In einzelnen Kolonieen war kein einziges Stäbchen über 6 μ lang. Dicke 0,8—1 μ.

Als wichtigstes Resultat dieser Untersuchungen ist die Thatsache zu nennen, daß aus sämtlichen Sauerteigproben mit Hilfe der anaëroben Kulturmethode eine stäbchenförmige, unbewegliche Bakterienart gezüchtet werden konnte, welche der zur Entwickelung gelangten Kolonieenzahl nach zu schließen, im Gramm Sauerteig millionenweise vertreten sein muß.

Der Form nach ist diese Art charakterisiert durch die wechselnde Länge der Stäbchen. Wenn auch im normalen Falle die mittlere Länge 3—4 μ beträgt, so finden sich doch in ein und derselben Kolonie häufig alle Maße zwischen $1^1/_2$ und 8 μ vertreten. In vielen Fällen machten die Kulturen den Eindruck einer Reinkultur, in anderen Fällen waren Begleitkolonieen vorhanden, z. B. die „wolligen", die aus Gründen, auf die hier nicht näher eingetreten werden kann, zu demselben physiologischen Typus gehören und morphologisch von den extremen Formen der normalen Kolonieen nicht scharf getrennt werden können. Daß auch in den Fällen, wo anscheinend Reinkultur vorlag, in Wirklichkeit eine solche im Sauerteig nicht existierte, geht daraus hervor, daß bei der Untersuchung von Plattenkulturen Kolonieen vom Typus des Bact. lactis acidi nie ganz fehlten.

Als weitere Ergebnisse dieser anaëroben Kulturserie sind zu erwähnen das vollständige Ausbleiben von Gasbildung (mit Ausnahme des Falles X, der auf ein zufällig anwesendes sporenbildendes Stäbchen zurückzuführen war) und das scheinbare Fehlen von Hefe. Die erstere Thatsache bestätigt nur die früher auf dem Wege des aëroben Plattenverfahrens ermittelte, nämlich die Abwesenheit der fakultativ anaëroben Gasbildner des Mehls. Die zweite Thatsache steht im Zusammenhang mit den noch nicht endgiltig aufgeklärten Beziehungen zwischen Luftbedürfnis, Vermehrungsfähigkeit und Gärthätigkeit der Hefe. Unter den vorliegenden Verhältnissen scheint sich die Hefe überhaupt nicht vermehrt zu haben, und zwar infolge des Mangels an Luftzutritt. Daß sie in jeder Sauerteigprobe reichlich vorhanden ist, haben nicht nur unsere eigenen, sondern auch früher von Anderen angestellte Versuche auf aërobem Wege zur Genüge bewiesen.

Die specifischen, durch ihre wechselnde Länge und Unbeweglichkeit vorläufig gekennzeichneten Stäbchen, von denen man mit

vollem Recht sagen kann, daß sie „konstant und reichlich" im Sauerteig auftreten, werden wir in der Folge kurz als Sauerteigstäbchen oder auch nur als S.T.-Stäbchen bezeichnen.

5. Die Beziehungen der Sauerteigstäbchen zur Gruppe der Längsstäbchen-förmigen Milchsäurebakterien.

Verschiedene Anzeichen sprachen dafür, daß diese Sauerteigstäbchen kräftige Säureproduzenten waren. Dieses ließ sich schließen aus ihrem regelmäßigen Vorkommen im Sauerteig, der in älterem Zustande ausgesprochen sauer schmeckt, sodann aus der Trübung, die in älteren Traubenzucker-Agarstichkulturen eintrat, sowie aus dem Wachstum der Stichkultur überhaupt, das vollständig demjenigen der echten, nicht gasbildenden Milchsäurebakterien entspricht, d. h. die Kultur wächst gleich kräftig im ganzen Stichkanal; an der Oberfläche des Nährbodens bildet sich keine Ausbreitung[1]). Daß es sich wirklich um einen Säurebildner handelte, wurde nachgewiesen durch Titrierung älterer, durch Aufkochen verflüssigter Traubenzuckerrst-Agaichkulturen. Zur Neutralisation waren immer mehrere Kubikcentimeter einer $^1/_4$ n-Natronlauge erforderlich (Indikator Phenolphtaleïn), während das nicht geimpfte Nährsubstrat neutral oder schwach alkalisch reagierte. Die Kulturen unseres Stäbchens waren niemals, auch beim Aufkochen nicht säuerlich riechend, sodaß die gebildete Säure vorwiegend nicht flüchtiger Natur sein mußte. Versuche, das krystallisierte Zinksalz der Milchsäure zu gewinnen, schlugen bisher fehl, vermutlich aus dem Grunde, weil nicht Milchsäure allein, sondern ein Säuregemisch vorliegt.

Werfen wir einen Blick auf die Gruppe der nichtgasbildenden stäbchenförmigen Milchsäurebakterien, so tritt uns sofort bezüglich der Formen eine Verschiedenheit entgegen, die eine Trennung in 2 Untergruppen gestattet. Die eine wird gebildet von ausgesprochenen Kurzstäbchen; ihr wichtigster Vertreter ist das Bact. lactis acidi Leichmann. Die andere umfaßt Stäbchenarten, die in ihrer Länge außerordentlich variieren, im Durchschnitt aber als Langstäbchen aufgefaßt werden können. Vertreter dieser Gruppe sind der Bacillus acidificans longissimus Lafar[2]) (wahrscheinlich identisch mit Bac. Delbrücki Leichmann[3]), Bacillus lactis acidi Leichmann, die in obergärigen Bieren regelmäßig auftretenden Milchsäurebakterien, gewisse durch E. v. Freudenreich aus Milch, Molkenessig und Käse gezüchtete Arten, sodann Milchsäurebakterien, die Müller-Thurgau[4]) als Erreger

1) Vergl. Leichmann und Bazarewski, Ueber einige in reifen Käsen gefundene Milchsäurebakterien. (Centralbl. f. Bakt. u. Par. II. Abt. Bd. VI. p. 245.)

2) Lafar, Technische Mykologie. Bd. I. Schizomycetengärungen. 1897. p. 223.

3) Vergl. Henneberg, W., Zur Kenntnis der Milchsäurebakterien der Brennereimaische, der Milch und des Bieres. (Wochenschr. für Brauerei. Jahrg. XVIII. 1901. No. 30; ref. in Centralbl. f. Bakt. u. Par. II. Abt. Bd. VIII. p. 184.)

4) Vergl. Koch, Jahresber. über Gärungsorganismen. 1899. p. 150.

der Milchsäuregärung in Obstweinen fand, u. s. w. Von allen diesen Arten ist bekannt, daß sie gelegentlich in Form von mehr oder weniger langen Stäbchen oder sogar von langen Fäden wachsen können. Diesem gemeinschaftlichen morphologischen Merkmal, das diese ganze Gruppe vom Bact. lactis acidi und seinen nächsten Verwandten trennt, scheinen auch physiologische Unterschiede zu entsprechen. So ist für die meisten der aufgezählten Vertreter der zweiten Gruppe bekannt, daß ihr Temperaturoptimum höher liegt als dasjenige der gewöhnlichen Milchsäurebakterien. Eine zusammenfassende Bearbeitung der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien wird vielleicht noch weitere Unterschiede ergeben. Wir haben uns mit dem Studium der aus Sauerteig isolierten Art nur soweit befaßt, als zu einer allgemeinen Charakterisierung erforderlich war.

(Fortsetzung folgt.)

Erdbeerbacillus (Bacterium Fragi).

[Aus der Versuchsstation für Molkereiwesen Kiel.]

Von Dr. phil. **Wilhelm Eichholz**, Kiel.

Mit 2 Figuren im Text.

Gelegentlich einer größeren Arbeit, welche das Studium der bei verschiedenen Temperaturen in Milch zur Entwickelung kommenden Bakterienarten zum Gegenstande hatte, wurde das ganze Abendgemelke einer Kuh aus dem Stalle eines Kieler Ackerbürgers auf mehrere Erlenmeyer'sche Kolben verteilt und bei verschiedenen Temperaturen im Thermostaten aufgestellt.

Die Probe No. 1, welche bei $3\,^1/_2\,^0$—$7\,^0$ C aufbewahrt wurde, hielt sich 8 Tage, ohne zu gerinnen. Nach 4 Tagen nahm sie einen eigentümlichen, haselnußähnlichen Geschmack an, welcher nach 6 Tagen einem deutlichen Erdbeergeschmack Platz machte. Dieser hielt sich bis zum 23. Tage, wo der Versuch abgebrochen wurde.

Mit Hilfe des Plattenverfahrens gelang es, den Erreger dieses Erdbeergeschmackes in einem 1,05 μ breiten und 1,75—2,10 μ langen Bacterium aufzufinden. Dasselbe besitzt lebhafte Eigenbewegung und ist an einem Pol begeißelt.

Auf allen bekannten Nährböden, mit Ausnahme von Kartoffeln, produziert es einen sehr angenehmen intensiven Erdbeergeruch, welcher auf Gelatine und besonders in Bouillon am ausgeprägtesten ist.

Das Temperaturoptimum (für Agar-Agar-Strichkulturen) liegt zwischen $26\,^0$ und $29\,^0$ C. Zwischen $1^1/_2$—$3^1/_2\,^0$ C findet nur sehr spärliches und langsames Wachstum statt, bei Körperwärme gedeiht es gar nicht, auch wird seine Entwickelungsfähigkeit durch mehrtägigen Aufenthalt bei $37\,^0$ dauernd geschädigt. Das Optimum der Aromabildung liegt bei 18—$14\,^0$ C.

Sporenbildung wurde nicht beobachtet. Die Resistenzfähigkeit gegen Wärme wurde an 3 Wochen alten (jedoch noch sehr keimkräftigen) Milchkulturen geprüft. Durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 50° und 10 Minuten langes Erhitzen auf 75° C wurde völlige Abtötung erzielt.

Milchzucker-Gelatine-Platten-Kulturen.

2 Tage alte Kolonieen sind kleine, weißliche Erhebungen. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen sie polygon, bis kreisförmig mit konzentrisch aufgelagerten Verdickungen, im Inneren sind sie grob gekörnt. Größere Kolonieen zeigen eine sehr schöne, charakteristische, rosettenförmige, gänseblümchenartige Zeichnung (Fig. 1 u. 2).

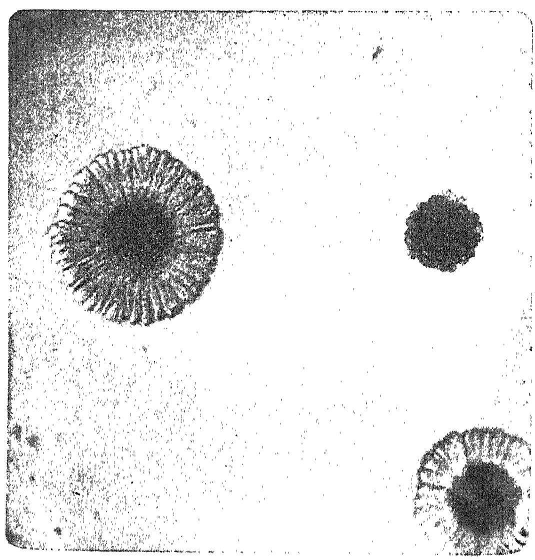


Fig. 1. Bacillus Fragi. Milchzucker-Gelatine-Platten-Kolonieen. 2 ältere und eine jüngere Kolonie. (30fache Vergr.)

Milchzucker-Agar-Agar-Platten-Kulturen.

Die Kolonieen sind rund, konzentrisch geschichtet und wenig charakteristisch.

Milchzucker-Gelatine-Strichkulturen.

Die Kultur ist ein farbloser, dünner, zarter Belag, der sich nur schwer mit der Nadel abnehmen läßt, und hat das Aussehen eines lancettlichen Blattes mit deutlich ausgeprägter Mittelrippe und ausgefransten Rändern. Der Erdbeergeruch beginnt nach 5 Tagen schwächer zu werden, jedoch ist auch bei alten Kulturen niemals Amingeruch wahrzunehmen.

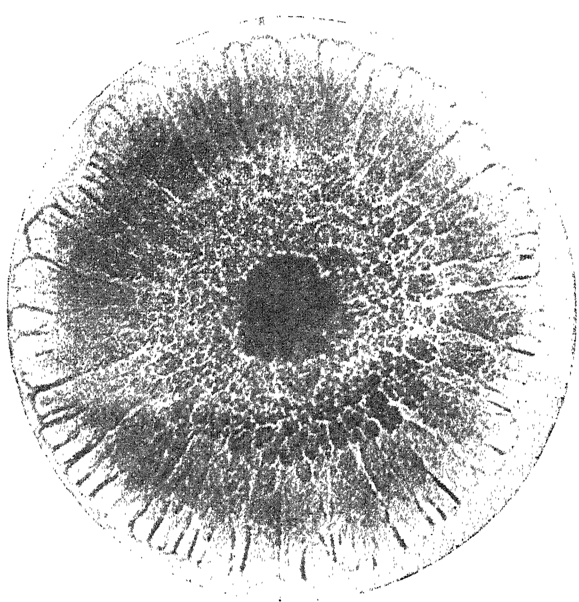


Fig. 2. Bacillus Fragi. Milchzucker-Gelatine-Platten-Kolonie. (90fache Vergr.)

Agar-Agar-Strichkulturen.

Farblose, leicht abnehmbare, weder klebrige noch schleimige Auflagerung, fast ganz glatter Strich mit nur leicht gewellten Konturen. Das Kondenswasser enthält Bodensatz. Junge Kulturen riechen nach Erdbeeren, nach einigen Tagen tritt Trimethylamingeruch auf.

Gelatinestichkulturen.

Langsames Wachstum. Flache Nagelkultur mit spärlichem, bandförmigen Tiefenwachstum. Das Oberflächenwachstum ist den Gelatineplattenkolonieen gleich. In älteren Kulturen bilden sich 1—2 cm unter der Oberfläche wolkenartige Trübungen. Der Erdbeergeruch erhält sich über 25 Tage hinaus völlig rein.

Milchzucker- bezw. Traubenzucker-Agar-Agar-Stichkulturen.

Wächst auf der Oberfläche und im ganzen Stichkanal ohne Gasbildung.

Bouillonkulturen.

Nach 2 Tagen beginnt sich die Flüssigkeit zu trüben, es bildet sich flockiger Bodensatz, späterhin eine Kahmhaut, die bei geringer

Berührung zu Boden fällt und sich bald erneuert. Der Erdbeergeruch bleibt über 20 Tage hinaus erhalten.

Impft man eine größere Menge (500 ccm) Bouillon mit einigen Kubikcentimetern einer mehrere Tage alten Bouillonkultur, so tritt der Erdbeergeruch erst nach 2—3 Wochen auf, trotzdem schon nach einigen Tagen intensives Wachstum und Trübung zu beobachten ist.

Demnach scheint Vermehrung und Esterproduktion nicht Hand in Hand zu gehen, diese vielmehr erst dann einzutreten, wenn jene durch Nahrungsmangel bis zu einem gewissen Grade gehemmt ist.

Kartoffelkulturen.

Grauweißer stumpfer oder glänzender Belag. Im älteren Stadium wird die Kartoffel dunkel verfärbt, die Kultur wird braun und ist ohne Glanz.

Auf sterilisierter, mit Magermilch versetzter Butter bringt das Bacterium nach einigen Wochen Anisgeruch hervor.

Wirkung auf Milch.

In Milch bringt das Bacterium weder Gasbildung noch Gerinnung hervor. Bei Zimmertemperatur nimmt die Milch nach 3 Tagen einen eigentümlichen Fäulnisgeruch an, wie unter dem Einfluß der meisten Milch peptonisierenden Bakterien, der Geschmack ist widerlich faulig, etwas esterartig aromatisch, entfernt an das Erdbeeraroma erinnernd. Die Milch ist stark alkalisch. In älteren Kulturen läßt sich nach Abscheidung des Caseïns und Albumins durch Kochen mit Magnesiumsulfat mittelst Millon's Reagens Pepton nachweisen.

Eine 4 Tage alte, bei 4° C stehende Kultur zeigte noch den reinen Kochgeschmack sterilisierter Milch; erst nach ca. 8 Tagen war eine Veränderung der Milch zu beobachten, bei welcher der Erdbeergeruch deutlicher hervortrat als in den bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrten Kulturen. Das Bacterium gehört also zu den in gewissem Sinne kälteliebenden Bakterien, welche, trotzdem ihr Temperaturoptimum bedeutend höher liegt, in Symbiose mit den gewöhnlichen Milchbewohnern nur bei sehr niederer Temperatur gedeihen.

Die Unterscheidungsmerkmale des Bacterium Fragi von Pseudomonas Fragariae (Gruber) sind vornehmlich sein charakteristisches Wachstum auf Gelatineplatten und Gelatinestrich, der Mangel an Fluorescens und vor allem die ungleich höhere Wirkung der Esterbildung. Nach 3 Monate langer Züchtung auf künstlichen Nährböden hatte sich diese Eigenschaft noch ungeschwächt erhalten.

The Aëration of Milk.

By **Charles E. Marshall,**

Bacteriologist and Hygienist of Experiment Station Michigan Agricultural College Michigan.

With 1 figure.

(Fortsetzung.)

VI. Analyses of Gas-Content of Milk Directly after Aërating over Glass.

To understand what is effected by aëration a study of the gas-content of milk was made after it had been subjected to a speciall, devised process of aëration. The common methods of aëration were not employed on account of our inability to cope with the necessary requirements of such experiments with the facilities at hand. It would be absolutely essential that in such methods, a milk should be used under our control from the time in leaves the udder and the aëration should also have to be under our direct supervision. Since such methods were ruled out from necessity, we resorted to methods which would simulate the methods in vogue as closely as possible.

A piece of glass six feet long by two inches wide was placed on an inclined board at an angle of about twenty degrees. Over this the milk was run drop by drop, making a film approximately of the extent of surface as indicated in the table. The amount of milk aërated during the process is also given. Room temperature varying from 18° to 20° C. was employed during aëration und was found to be the only temperature which could be satisfactorially used unless a special plant for aërating were constructed. The analyses of gases obtained from milk aërated over glass were conducted the same as with milk after milking: —

(See table III. pag. 430.)

In these tables the percentages of carbon dioxide are

39,08, 34,05, 38,72, 34,24, 39,63, and 47,71.

The average of these is 40,57 $^1/_6$ per cent.

This represents a loss of 19,06 $^5/_6$ per cent. of carbon dioxide by aërating over glass, for the percentages of carbon dioxide after milking were,

59,31, 55,33, 58,27, 66,1, 65,65 and 53,28.

The averages of these is 59,63 $^2/_3$.

The percentages of oxygen obtained by aëration are,

22,55, 23,4, 20,85, 22,29, 17,77, 16,66.

The average of these is 20,58 $^2/_3$ per cent.

In the case of milk directly after milking the percentages of oxygen were,

13,79, 12,66, 14,17, 11,89, 10,96 and 15,57.

The average of these is 13,17 $^2/_3$ per cent.

Table III.

Sample	I	II	III	IV	V	VI
Date	Dec. 3rd, a. m.	Dec. 5th, a. m.	Dec. 12th, a. m.	Jan. 3rd, a. m.	Jan. 4th, a. m.	Jan. 6th, a. m.
Began milking at	7:25	7:30	8:20	8:00	7:50	7:45
Completed milking at	7:38	7:40	8:30	8:15	8:00	8:00
Began aërating at	7:45	7:50	8:40	9:00	8:45	9:28
Completed aërating at	8:50	8:45	9:40	10:00	9:45	10:28
Began pumping at	9:25	9:10	10:00	10:30	10:2	11:15
Completed pumping at	10:25	10:10	11:00	11:30	11:12	12:15
Barometric pressure in mm.	692,632	698,632	688,632	703,772	702,632	688,632
Temperature of water in tank	38°	38°	38°	36°	38°	38°
Total gas in c.cm.	6,0948	4,2344	5,3384	4,1727	4,8757	6,9394
Free carbon dioxide in c.cm.	2,3818	1,4418	2,0670	1,4287	2,4198	3,3107
Per cent. carbon dioxide	39,08	34,05	38,72	34,24	49,63	47,71
Free oxygen in c.cm.	1,3743	0,9908	1,1130	0,9300	0,8664	1,1561
Per cent. oxygen	22,55	23,4	20,85	22,29	17,77	16,66
Residual gas in c.cm.	2,3385	1,8017	2,1583	1,8138	1,58	2,4725
Per cent. of residual gas	38,37	42,55	40,43	43,47	32,60	35,63
Amount of milk aërated in c.cm.	850	700	570	700	565	700
Extend of surface approximately	$1^1/_2$ in.	$1^1/_2$ in.	$1^1/_2$ in.	$1^1/_2$ in.	$1^1/_2$ in.	$1^1/_2$ in.

This represents a gain of 7,41 per cent in the oxygen constituent of aërated milk over milk which has not been aërated.

The residual gas exists in the following percentages in the aërated milk,

38,37, 42,55, 40,43, 43,47, 32,60 and 35,63.

The average of these is 38,84 $^1/_6$ per cent.

In milk after milking,

26,9, 32,01, 27,56, 23,01, 23,39, 31,15.

The average of these is 27,17 per cent.

It thus follows that the residual gas has increased 11,67 $^1/_6$ per cent.

After milking the percentages of oxygen to total gas less carbon dioxide are,

33,83, 28,19, 33,86, 35,16, 32,16, and 31,96.

The averages of these is 32,53 per cent.

After aërating the percentages are,

37,01, 35,44, 34,00, 33,89, 35,45 and 31,86.

The average of these is 34,60 $^5/_6$, a gain of 2,07 $^5/_6$ per cent by aëration.

VII. Analyses of Gas-Content of Milk after Aëration over Tin, Copper and through Glass Wool and Copper Sieves.

It was thought advisable to test different materials in place of glass inasmuch as it is well established that some metals have

an influence upon oxidation. The next two tables will indicate the value of aëration over tin or copper. The last table is the result of an attempt to break up the drops of milk by passing the drops through copper sieves and through glass wool three inches thick. The drops passing in all through six feet of air before reaching the receptacle, the materials mentioned above intervening.

It was found very difficult to operate this combination of air sieves and glass wool satisfactorily so as to obtain uniform results. The trouble lay in the fact that sometimes the drops could be thoroughly shattered and at other times small streams would form.

Table IV. (Over tin.)

Sample	I	II	III	IV	V
Date	Dec. 20th, a. m.	Dec. 21st, a. m.	Dec. 23rd, a. m.	Dec. 28th, a. m.	Jan. 7th, a. m.
Began milking at	7:40	7:45	7:45	7:35	7:40
Completed milking at	7:50	8:00	8:00	7:48	7:50
Began aërating at	7:55	8:05	8:05	7:55	8:45
Completed aërating at	8:55	9:05	9:05	8:55	9:45
Began pumping at	9:30	9:30	9:25	9:18	10:15
Completed pumping at	10:30	10:30	10:25	10:18	11:15
Barometric pressure in mm.	695,265	696,632	678,632	688,672	687,242
Temperature of water in tank	38,5 °	37,8	37,9 °	38 °	37,2 °
Total gas in c.cm.	4,4822	6,4969	6,7922	6,9385	6,6669
Free carbon dioxide in c.cm.	1,8874	1,8561	1,5900	2,4485	2,9854
Per cent. carbon dioxide	42,11	28,57	23,41	35,29	44,78
Free oxygen in c.cm.	0,8541	1,4715	1,7489	1,4057	1,0320
Per cent. of oxygen	18,61	22,65	25,75	20,26	15,48
Residual gas in c.cm.	1,7606	3,1691	3,4531	3,0841	2,6494
Per cent. of residual gas	39,28	48,78	50,84	44,45	39,74
Amount of milk aërated	1000 c.cm.	600 c.cm.	565 c.cm.	800 c.cm.	560 c.cm.
Extent of surface approximately	3/4 in.	2 1/2 in.	2 1/2 in.	1 1/2 in.	1 1/2 in.

(See table V and VI pag. 432.)

The studies of aëration as compared with unexposed milk and milk directly after milking can profitably be presented at this stage. The percentages of carbon dioxide are in unexposed milk, 80,58, 78,35, 81,75, 81,97, 80,16, 86,19;

in milk after milking, 59,31, 55,33, 58,27, 66,1, 65,65, 53,28;

in milk after aëration, over glass, 39,08, 34,05, 38,72, 34,24, 49,63, 47,61;

over tin, 42,11, 28,57, 23,41, 35,29, 44,78;

over copper, 21,43, 52,25, 43,79, 41,54, 52,63;

through glass wool and copper sieves, 13,33, 21,42, 31,81, 36,66.

The averages of these are,

in unexposed milk . . . . 81,496 per cent.
in milk after milking . . . . 59,636 „ „

Table V. (Over copper.)

Sample	I	II	III	IV	V
Date	Dec. 10th, a. m.	Dec. 12th, a. m.	Dec. 19th, a. m.	Dec. 24th, a. m.	Dec. 26th, a. m.
Began milking at	7:30	7:35	7:50	7:30	7:35
Completed milking at	7:40	7:45	8:00	7:45	7:50
Began aërating at	7:45	7:48	8:10	7:55	8:00
Completed aërating at	8:40	9:00	9:10	8:55	9:00
Began pumping at	9:40	9:30	9:35	9:25	9:30
Completed pumping at	10:40	10:30	10:35	10:25	10:30
Barometric pressure in mm.	690,632	696,937	696,937	686,632	690,632
Temperature of water in tank	38°	37,5°	37,6°	38°	37,8°
Total gas in c.cm.	0,6349	5,0379	3,4637	4,4236	3,4411
Free carbon dioxide in c.cm.	0,136	2,638	1,516	1,837	1,8110
Per cent. carbon dioxide	21,43	52,25	43,79	41,54	52,63
Free oxygen in c.cm.	0,205	0,725	0,588	0,589	0,3169
Per cent. of oxygen	32,34	14,41	16,99	13,33	9,21
Residual gas in c.cm.	0,293	1,679	1,358	1,99	1,3131
Per cent. of residual gas	46,23	33,34	39,22	45,13	38,16
Amount of milk aërated	1 L.	1 L.	1/2 L.	1/2 L.	1 L.
Extent of surface approximately	2 1/2 in.	1 1/2 in.	1 1/2 in.	1 1/2 in.	1 1/2 in.

Table VI. (Over glass wool.)

Sample	I	II	III	IV
Date	Nov. 11th, a. m.	Nov. 25th, a. m.	Nov. 26th, a. m.	Dec. 27th, a. m.
Began milking at	7:40	7:35	7:25	7:45
Completed milking at	7:50	7:45	7:35	7:55
Began aërating at	8:30	8:00	7:45	8:00
Completed aërating at	9:30	9:00	8:45	9:00
Began pumping at	9:45	9:25	9:30	9:35
Completed pumping at	10:45	10:25	10:30	10:35
Barometric pressure in mm.	722,3932	690,632	697,265	694,632
Temperature of water in tank	22,8°	37,8°	38,5°	38°
Total gas in c.cm.	4,0405	2,5399	4,9704	5,4427
Free carbon dioxide in c.cm.	0,5385	0,5440	1,5810	1,9952
Per cent. of carbon dioxide	13,33	21,42	31,81	36,66
Free oxygen in c.cm.	1,0771	0,7711	0,9940	0,8844
Per cent. of oxygen	26,66	30,36	20,00	16,25
Residual gas in c.cm.	2,4247	1,2247	2,3952	2,5629
Per cent. of residual gas	60,01	48,22	48,19	47,09
Amount of milk aërated in c.cm.	560	600	750	1050

in milk after aëration,

over glass	40,572 per cent.
over tin	35,832 „ „
over copper	42,328 „ „
through glass wool and copper sieves .	25,805 „ „

In the case of oxygen the percentages are in an unexposed milk 2,88, 3,09 2,69, 2,14, 1,6, 2,12;

in milk directly after milking, 13,79, 12,66, 14,17, 11,89, 10,96, 15,57;

in milk after aëration over glass, 22,55, 23,4, 20,85, 22,29, 17,77, 16,66;

over tin 18,61, 22,65, 25,75, 20,26, 15,48;

over copper 32,34, 14,41, 16,99, 13,33, 9,21;

through glass wool and copper sieves, 13,33, 21,42, 31,81, 36,66.

The averages of these are,

in unexposed milk	2,42 per cent.
in milk directly after milking	13,176 „ „
in milk after aëration	
over glass	20,586 „ „
over tin	20,55 „ „
over copper	17,256 „ „
through glass wool and copper sieves .	25,805 „ „

The residual gas has the following percentages: in unexposed milk, 16,34, 18,56, 18,27, 15,89, 18,24, 11,71;

in milk after milking, 26,9, 32,01, 27,56, 22,01, 23,39, 31,15;

in milk after aëration over glass, 38,37, 42,55, 40,43, 43,47, 32,60, and 35,63;

over tin, 39,28, 48,78, 50,84, 44,45, and 39,74;

over copper, 46,23, 33,34, 39,22, 45,13, and 39,16;

through glass wool and copper sieves, 60,01, 48,22, 48,19, and 47,09.

The averages of these are,

in unexposed milk	16,535 per cent.
in milk directly after milking	27,17 „ „
in milk after aëration	
over glass	38,842 „ „
over tin	44,618 „ „
over copper	40,416 „ „
through glass wool and copper sieves .	50,8775 „ „

The relation of oxygen to residual gas is best shown by the determination of percentages of oxygen to the residual gas plus oxygen. This is done to bring out any atmospheric relationship.

Percentages in case of unexposed milk, 10,79, 14,09, 14,70, 11,86, 8,06, and 15,26;

milk after milking, 33,83, 28,19, 33,88, 35,16, and 31,96;

milk after aëration over glass, 37,01, 35,44, 34,00, 33,89, 35,45, and 31,86;

over tin, 32,14, 31,70, 33,61, 31,30, and 28,05;

over copper, 46,16, 30,15, 30,21, 22,83, and 19,44;

through glass wool and copper sieves, 30,75, 38,60, 29,32, and 25,65.

The average percentages are,

in unexposed milk	12,376 per cent
in milk directly after milking	32,53 „ „
in milk after aëration,	
over glass	33,94 per cent
over tin	31,16 „ „
over copper	29,76 „ „
through glass wool and copper sieves . .	31,13 „ „

We gather from three studies that after the milk leaves the udder of the cow there is a diminution in the amount of carbon dioxide and an increase in oxygen to a certain low percentage which is dependent upon the thoroughness with which the milk is brought in contact with the air. From the extreme results it is evident, there has been a falling off in carbon dioxide of 72,86 per cent. and an increase of 35,06 per cent. of oxygen thus indicating that there is no equi-volumetric interchange. Even the average results show no intimate relationship between the oxygen and carbon dioxide. This man, however, be due to the difference in the solubilitils of the gases, carbon dioxide being dissolved volume for volume, while oxygen enters only comparatively meagerly into solution, about four percent. by volume.

It would be possible by the direct determination of carbon dioxide in milk before the beginning of fermentation to say to what extent the milk has been aërated.

Further studies of the gases of milk and their interchange will reveal other aspects of the subject.

VIII. No Appreciable Interchange of Gases between Sterilized Milk and the Air Confined over It.

In six experiments an attempt was made to ascertain whether or not there was a decrease in the amount of oxygen in the air confined over sterilized milk and a development of carbon dioxide. Liter flasks were taken and 500 c.cm. of fresh milk was added and sterilized on three consecutive days for one hour each day. They were then sealed with sterilized rubber stoppers through the single perforations of which passed twoway stop-cock tubes by means of which the air content could be drawn at will. Besides the rubber stopper seal, a mercury seal was made about the rubber stopper by wiring a rubber tube about the neck of the flask and allowing it to reach above the rubber stopper where it was cut off. This formed a cup shaped envelop for the stopper and could be filled with mercury to cover the rubber stopper completely. Through the glass tube the air-content of the flask could be removed easily at will and analyzed without the possibility of extraneous air entering.

Six analyses of air from different flasks made within a period of six weeks showed no appreciable difference from that of the extraneous air used as check.

IX[1]. Action of Specific Bacteria upon the Interchange of Gases between Milk and Air.

It becomes necessary after a review of the gas-content of milk when unexposed to the air, when exposed to the air by milking, and by the process of aëration to consider what influences fermentation may have.

Of course it is well understood that micro-organisms are capable of producing different gases, yet we have felt it obligatory to make some specific studies in this connection. Consequently several microorganisms isolated from milk and known by their laboratory numbers were used to oculate sterilized milk and the flasks sealed as described under V.

Table VII. (Study of Interchange of gases confined over milk inoculated with specific Bacteria.)

Culture of micro-organisms	No. 119	No. 120	No. 121	No. 122	No. 123	No. 124	No. 125	No. 126	No. 128	No. 129	No. 130
Date of sample	Aug. 28	Aug. 28	Aug. 28	Aug. 28	Aug. 28	Aug. 28	Aug. 25	Aug. 28	Aug. 28	Aug. 28	Aug. 28
Date of analysis	Sept. 23	Sept. 24	Sept. 23	Sept. 26	Oct. 10	Sept. 28	Oct. 2	Oct. 18	Oct. 10	Oct. 15	Oct. 23
Amount of milk used in ccm	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Amount of air space over milk in c.cm.	225	220	220	220	216	221	179	213	225	213	218
Amount of gas examined in c.cm.	35,8	27,0	26,0	26,8	21,85	28,2	23,6	30,65	31,15	21,35	19,0
Amount of carbondioxide in c.cm.	3,4	16,0	0	15,4	1,25	12,8	2,2	0	7,45	0,1	2,2
Per cent. of carbondioxide	9,49	59,25	0	57,46	5,72	45,39	9,32	0	23,91	0,47	11,052
Amount of oxygen in c.cm.	1,0	0	4,6	0	0	0	0	11,50	0,2	0,05	1,2
Per cent. of oxygen	2,79	0	17,69	0	0	0	0	0,42	0,6	0,20	6,315
Amount of residual gas in c.cm.	31,4	11,0	21,4	11,4	26,60	15,4	21,0	29,35	23,5	21,20	15,6
Per cent. of residua gas	87,72	40,75	82,31	42,54	94,28	54,61	90,68	99,9958	76,08	99,33	82,633

It will at once be recognized that no attempt has been made to determine any other gases which may be present than carbon dioxide and oxygen, because with these alone are we mostly concerned. Hydrogen and marsh gas were determined in several instances and the results obtained were included with the total residual gas.

In most analyses, it is worthy of emphasis, there have been noticeable decreases in the amount of oxygen and increases in carbon dioxide. This however is not universally true because in No. 121, there has been no production of carbon dioxide and the oxygen has been but little reduced. In No. 126 there are no

1) See description of bacteria on page 442.

traces of carbon dioxide and still the oxygen has been practically consumed. In short there is a wide diversity of action, each micro-organism seems to be governed by its own peculiar functions. As a rule, however, there seems to be sufficient proof that carbon dioxide is a common product of these micro-organisms and that oxygen is consumed to a greater or less degree.

X. The Interchange of Gases between Milk Fresh from the Cow and Confined Air.

To ascertain whether changes indicated above took place fresh milk was taken and flasked as in the previous experiments and after a time the confined air analysed.

However before detailing the results of these experiments it may be desirable to quote the work of Dr. Felix Hoppe[1]) whose results are as follows: —

Sample	Vol. of air	Vol. of milk	Per cent. of CO_2	Per cent. of Oxygen	Per cent. of Nitrogen	Hours confined together
I	588	500	6,08	13,03	80,89	24
II	228	100	13,30	8,40	78,30	24
III	178	150	15,99	8,39	75,62	24
IV	185	140	10,94	12,64	76,42	24
V	156	140	35,95	0	64,05	96
VI	175	150	33,05	0	66,95	96
VII	289	185	28,58	3,76	67,66	96

E. Mathieu and D. Urbain[2]) have the following experiments which indicate an interchange of carbon dioxide and oxygen when air in confined our milk: —

10 c.cm. of milk was employed
at 10° C.

	in 2 hrs.	in 18 hrs.	in 48 hrs.	in 3 days	in 8 days
Oxygen absorbed in c.cm.	0,9	1,32	1,75	2,46	5,66
Carbon dioxide giving off c.cm.	traces	0,40	1,2	2,20	6,00

	at 18° C. in 24 hrs.	at 32° C. in 24 hrs.
Oxygen absorbed in c.cm.	2,62	5,00
Carbon dioxide given off in c.cm.	3,21	5,82

1) "Arch. f. Path. Anat. u. Physiol. u. f. Klinische Medicin". Bd. XVII. 1859. pag. 417.

2) Compt. Rend. 75. 1482.

Our results are as follows: —

Table VIII.

Sample A.

Amount of milk confined = 1040 c.cm.
Amount of air space over milk = 520 c.cm.
Temperature at which sample was maintained = 37½ ° C.

Amt. of gas analyzed	After 16 hrs. 29,8 c.cm.		After 40 hrs. 26,4 c.cm.		After 88 hrs. 48,5 c.cm.	
	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.
Carbon dioxide	1,8	6,04	3,6	13,63	10,1	20,83
Oxygen	4,6	15,47	1,0	3,79	0,0	0,0
Residual gas	22,0	78,49	21,8	82,58	38,4	79,17

Sample B.

Amount of milk confined = 985 c.cm.
Amount of air space over milk = 747 c.cm.
Temperature at which sample was maintained = 37½ ° C.

Amt. of gas analyzed	After 16 hrs. 37,2 c.cm.		After 45 hrs. 35,6 c.cm.		After 112 hrs. 38,8 c.cm.	
	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.
Carbon dioxide	1,2	3,84	7,6	21,35	17,4	55,08
Oxygen	5,4	17,31	1,2	3,37	0,0	0,0
Residual gas	24,6	78,85	26,8	75,28	21,2	44,92

Sample C.

Amount of milk confined = 905 c.cm.
Amount of air space over milk = 750 c.cm.
Temperature at which sample was maintained = 21 ° C.

Amt. of gas analyzed	After 18½ hrs. 33,0 c.cm.		After 42½ hrs. 32,6 c.cm.		After 91 hrs. 32,8 c.cm.	
	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.
Carbon dioxide	0,5	1,51	1,4	4,29	6,4	19,51
Oxygen	6,6	20,0	5,6	17,18	0,2	0,6
Residual gas	25,9	78,49	25,6	78,53	26,2	79,89

Sample D.

Amount of milk confined = 805 c.cm.
Amount of air space over milk = 770 c.cm.
Temperature at which sample was maintained = 10 ° C.

	After 22 hours		After 47 hrs.		After 118 hrs.	
Amount of gas analyzed	30,2 c.cm.		24,4 c.cm.		9,4 c.cm.	
	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.
Carbon dioxide	0,2	0,66	0,2	0,8	2,0	2,13
Oxygen	6,2	20,5	5,0	20,49	1,6	17,01
Residual gas	23,8	78,84	19,2	78,71	7,6	80,86

Sample E.

Amount of milk confined = 835 c.cm.
Amount of hydrogen over the milk = 915 c.cm.
Temperature at which sample was maintained = $37^1/_2$ ° C.

	After 19 hrs.		After $39^1/_2$ hrs.		After 114 hrs.	
Amount of gas analyzed	32,0 c.cm.		33,6 c.cm.		37,2 c.cm.	
	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.
Carbon dioxide	0,6	1,88	2,4	6,55	25,2	67,71
Oxygen	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Residual gas	31,4	98,12	31,2	93,45	12,0	32,29

Sample F.

Amount of milk confined = 1240 c.cm.
Amount of hydrogen over milk = 475 c.cm.
Temperature at which sample was maintained = 21 ° C.

	After 21 hrs.		After $42^1/_2$ hrs.		After 94 hrs.	
Amount of gas analyzed	29,4 c.cm.		33,2 c.cm.		42,0 c.cm.	
	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.	Amt. of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas by vol.
Carbon dioxide	0,2	0,69	0,5	1,5	2,8	6,66
Oxygen	0,2	0,69	0,5	1,5	0,0	0,0
Residual gas	29,0	98,62	32,2	97,00	39,2	93,34

These tables confirm the work with specific micro-organisms and demonstrate that there is no uniformity in the results obtained on studying the interchange of gases due to the fermentations induced by bacteria. Usually oxygen entirely disappears and carbon

dioxide increases in amount, still it is found that traces of oxygen remain in some cases of air confinement over milk even after many hours. Unless there is an inducted fermentation, there can be no elimination of carbon dioxide and decrease of oxygen. Further, after milk reaches an age where bacterial growth is abundant there can be no correct study of the gas content of milk.

Thörner and Blyth have further demonstrated that as fermentation sets in the carbon dioxide increases and oxygen may totally disappear.

It is apparent therefore that micro-organisms enter intimately into the production of carbon dioxide and the absorption of oxygen after fermentation begins. This may be checked by the use of antiseptics in milk.

XI. Action of Antiseptics upon the Interchange of Gases between Milk and Air Confined over It.

Attempts were made employing chloroform, ether, formaldehyde but without success, because of their interference with the gas analyses.

Mercuric chloride and salicylic acid were also used but they were not satisfactory.

Lysol gave us the most trustworthy results.

(See table IX pag. 440.)

From this we gather that some oxygen has been absorbed as is indicated by the lower percentage. It may be, however, that the carbon dioxide, had any been evolved, was absorbed by the alkalinity of the lysol. This element of error may be overcome by the use of trikresol, a neutral substance, which yielded these results: —

500 c.cm. of fresh milk was placed in a liter flask to which was added one per cent. of trikresol. The flask was then mercury sealed and placed away for twenty-five days. An analysis made of the gases confined over the milk resulted as follows:

Total amount of gas analyzed		= 19,6	c.cm.
Carbon dioxide	= 0 c.cm.	= 0	per cent.
Oxygen	= 3,6 „	= 18,37	„ „
Residual gas	= 16,0 „	= 81,63	„ „

Here again the oxygen is gradually diminishing but no carbon dioxide appears to take its place as is the case with fermentation. The reason given for the failure of carbon dioxide to appear in the case of lysol will not hold with the neutral trikresol.

Milk to which lysol or trikresol has been added cannot be regarded as normal milk, yet from this work there is indicated an absorption of oxygen; carbon dioxide is not found present, but should normal conditions be maintained there is a possibility of its appearance. Furthermore what carbon dioxide exists in the milk as gas could with difficulty be detected by an analysis of the confined air over the milk.

Table IX. (Action of lysol upon gaseous interchange in milk.)

Sample	A		B		C	
Time before analysis	90 hrs.		13 days		20 days	
Per cent. of Lysol used	$^1/_2$		2		1	
Temperature of sample	$37^1/_2$		Room		Room	
Amount of gas analysed	30,6 c.cm.		17,4 c.cm.		28,6 c.cm.	
	Amount of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas per volume	Amount of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas per volume	Amount of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas per volume
Carbondioxide	0,4	1,31	0,2	1,15	0,2	0,7
Oxygen	4,6	15,03	3,0	17,44	5,0	17,51
Residual gas	25,6	83,66	14,2	81,41	23,4	82,42
Amount of milk confined	1000 c.cm.		250 c.cm.		500 c.cm.	
Amount of air space over sample	720 „		310 „		605 „	

Sample	D		E		F	
Time before analysis	28 days		29 days		90 hours	
Per cent. of Lysol used	1		2		Control	
Temperature of sample	Room		Room		$37^1/_2$	
Amount of gas analysed	31,6 c.cm.		45,4 c.cm.		27,0 c.cm.	
	Amount of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas per volume	Amount of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas per volume	Amount of gas obtained in c.cm.	Per cent. of gas per volume
Carbondioxide	0	0	0	0	6,2	22,97
Oxygen	4,0	12,66	5,6	12,33	0	0
Residual gas	27,6	87,34	39,8	87,67	20,8	77,03
Amount of milk confined	500 c.cm.		250 c.cm.		1000 c.cm.	
Amount of air space over sample	625 „		265 „		725 „	

XII. The Action of 100 p. c. of Carbon Dioxide upon the Development of Bacteria.

From the results of the foregoing work with the gas-content of milk we are now led to a study of the influence of carbon dioxide upon micro-organisms, for it is a general and an indefinite belief that aëration has a direct bearing upon the bacterial life usually present in milk. Inasmuch as there is a high percentage of carbon dioxide in milk, it is probable that its presence might have some effect upon the development and increase of the bacteria found and thus change the course of possible milk fermentations. That carbon dioxide does exert an influence has been shown by

Delbrück and Foth[1]), Hansen[2]), Ortloff[3]). The gist of the conclusions reached by the experimental labors of these men, although not wholly in unison, is found in the restraining effect which carbon dioxide has upon the multiplying power of the yeast cell and upon its fermenting energy; also in its stimulating action upon the individual fermenting capacity of the yeast cell apparently in its search for an oxygen supply. For outward manifestations, there would appear only a restraint in fermentation development. To arrive at a comprehensive understanding of the situation in its most direct relation, carbon dioxide under varying conditions was employed to definitely ascertain its influence upon micro-organisms. In the first trial carbon dioxide in its free state was used to determine its direct bearing upon micro-organisms in plate cultures.

To accomplish this, two sets of plates as nearly identical as possible were made of the same micro-organisms; one set to be kept in the air and the other to be confined in Novy's anaërobic plating apparatus into which carbon dioxide was passed until the percentage reached one hundred. These plates were allowed to develop 48 hours or until they were thought to be fully developed, when the plates from the anaërobic apparatus were removed and both sets counted at the same time and closely compared. In all of this work pains-taking care was exercised to observe the most careful technique in securing exact conditions in every respect for the two sets of plate cultures studied — A single batch of media, the same diluted fresh bouillon culture, the same loop for measurement, the same environment during development excepting the factor, carbon dioxide — all were brought under the closest scrutiny. The carbon dioxide used was generated from sodium carbonate and sulphuric acid. The results of these studies are tabulated below: —

(See table X pag. 442.)

From the above table it will be readily noticed that 100 per cent. of carbon dioxide has not only a marked retarding influence, but in some instances an inhibitory action where the germs have not grown at all. The retarding action was noticeable in the slow development of the colonies in the plates subjected to carbon dioxide, when as when in air duplicate cultures they developed very rapidly. This restraining action is manifest in five out of eleven. The inhibitory action was determined by allowing the plates to develop in air after removal from the carbon dioxide atmosphere. This inhibitary action existed in six out of eleven. Total inhibition exists in Nos. 123, 125, 127: To what extent the amount of carbon dioxide may exercise any influence is of considerable interest, since we find a great variation in the carbon dioxide in milk as it undergoes the various operations of the dairy; consequently we have carried the work a little farther to ascertain the effect as the percentage is reduced.

1) Wochenschrift für Brauerei. 1887. p. 37.
2) Centralbl. f. Bakt. Bd. I. 1887.
3) Centralbl. f. Bakt. Bd. VI. S. 676, 721, 753.

Table X.

No. of Micro-organism	Plates developed in 100 % CO_2		Plates developed in air as check.	
	Growth	No. of Colonies	Growth	No. of Colonies
119	—	—	—	—
120	[2]) r. g.	4400	[1]) v. g.	4 579
121	[3]) n. g.	—	v. g.	1 399
122	r. g.	7549	v. g.	7 441
123	n. g.	—	v. g.	1 727
124	r. g.	525	v. g.	636
125	n. g.	—	v. g.	119
126	n. g.	—	v. g.	381
127	n. g.	—	v. g.	560
128	r. g.	3650	v. g.	3 720
129	—	—	—	—
130	n. g.	—	v. g.	1 235
131	r. g.	3434	v. g.	10 303
132	—	—	—	—
133	—	—	—	—
134	—	—	—	—

XIII. Description of Bacteria.

The laboratory numbers used to represent the micro-organisms may be elucidated by reference to a table giving some identifying marks, although in the case of those bacteria obtained from milk directly no attempt has been made to work out their life histories. They are in every case micro-organisms which have been found more or less constantly in the college dairy, have been used frequently in our laboratory work because of their frequency in the college dairy milk and are therefore representative of the class of "milk bacteria". A brief descriptive sentence is attached to each micro-organism to indicate in particular its action upon milk.

Our purpose in selecting a representative group of this nature for close study, was to gain not only information regarding the individual response of these germs to the studies undertaken, but also the results ensemble. An attempt was made to take ordinary market milk for these studies, but this after several trials was given up, because it gave no analytical significance in this application. (See table XI pag. 443.)

XIV. The Action of 96,5 p. c. of Carbon Dioxide upon the Development of Bacteria.

Table XII represents culture plates made in exactly the same way and allowed to develop under identically the same conditions as in Table X, with this exception, the carbon dioxide in the aërating apparatus was reduced to 96,5 p. c.

1) v. g. = Vigorous normal growth of colonies.
2) r. g. = Retarded growth of colonies.
3) n. g. = No growth of colonies.

Table XI.

No. of Micro-organisms	Description
119	Orange pigment producing bacillus capable of peptonizing milk rapidly after first curdling the milk.
120	Sours milk rapidly, curdling it and after standing for a long period slightly peptonizes it. It is a short bacillus. Gas is produced in abundance.
121	A short bacillus. No gas is produced. Gives rise to solid curd, large amount of acid, and does not cause peptonization of the milk.
122	Similar to No. 120. In some respects it differs but in general, belongs to same type.
123	A long bacillus which peptonizes milk very rapidly. Curd formed before peptonization.
124	Gassy cheese germ described in Bulletin 183.
125	A long bacillus peptonizing milk very rapidly but different from 123 in many respects.
126	A coccoid bacillus producing no apparent change in milk.
127	A medium sized bacillus which dissolves casein rapidly without producing any distinct curd.
128	Of same type as numbers 120 and 122 but differing in details.
129	Hay bacillus — very weak. Stock culture.
130	Potato bacillus. Stock culture.
131	Colon bacillus. Stock culture.
132	Eberth bacillus. Stock culture.
133	Ropy cream bacillus as described in Bulletin 140 of this station.
134	Hueppe's bacillus acidi lactici. Stock culture.

Table XII.

No. of micro-organism	Plates developed in 96,5 % CO_2		Plates developed in air as check	
	Growth	No. of colonies	Growth	No. of colonies
119	n. g.	—	v. g.	3480
120	r. g.	2040	v. g.	2000
121	n. g.	—	v. g.	1280
122	r. g.	2640	v. g.	2060
123	n. g.	—	v. g.	1920
124	r. g.	1650	v. g.	1900
125	—	—	—	—
126	n. g.	—	v. g.	260
127	n. g.	—	v. g.	270
128	r. g.	3000	v. g.	2800
129	—	—	—	—
130	r. g.	200	v. g.	660
131	r. g.	1200	v. g.	1870
132	n. g.	—	v. g.	3600
133	n. g.	—	v. g.	2060
134	n. g.	—	v. g.	4400

Again the retardation and inhibition of the growth of micro-organisms appear to be about the same as in Table X. No development occurred in 119, 121, 123, 126, 127, 132, 133, 134 or eight out of sixteen and 119, 123, 125, 127, 133 were wholly inhibited or even destroyed for they did not develop after exposure to air 48 hours. The restraining influence therefore was exerted in every instance, extending to total inhibition or distruction in the cases cited.

XV. The Action of 62,9 p. c. of Carbon Dioxide upon the Development of Bacteria.

Carrying this investigation still further we find in Table XIII the conditions identical with the previous tables but the carbon dioxide has been reduced to 62,97 per cent.

Table XIII.

No. of Micro-organism	Plates developed in in 62,97 % CO_2		Plates developed in air as check	
	Growth	No. of colonies	Growth	No. of colonies
119	n. g.	—	v. g.	5434
120	r. g.	3408	v. g.	3280
121	r. g.	2968	v. g.	4346
122	r. g.	6360	v. g.	6140
123	n. g.	—	v. g.	3230
124	r. g.	2380	v. g.	2475
125	—	—	—	—
126	n. g.	—	v. g.	960
127	n. g.	—	v. g.	1720
128	r. g.	3234	v. g.	3432
129	—	—	—	—
130	r. g.	200	v. g.	953
131	r. g.	1716	v. g.	2108
132	n. g.	—	v. g.	7000
133	n. g.	—	v. g.	4865
134	n. g.	—	v. g.	2520

Under the influence of 62,97 % of carbon dioxide we begin to find that upon some of the micro-organisms, as in the case of 121, the influence of carbon dioxide is not so marked as in the previous tables; and when, as in the case of Table XIV, the carbon dioxide has been reduced to 32,9 per cent, the restraining influence is but slight with most of the micro-organisms studied.

XVI. The Action of 32,9 per cent. of Carbon Dioxide upon the Development of Bacteria.

Table XIV.

No. of Micro-organism	Plates developed in 32,9 % CO_2		Plates developed in air as check	
	Growth	No. of colonies	Growth	No. of. colonies
119	n. g.	—	v. g.	5200
120	v. g.	2880	v. g.	3020
121	v. g.	402	v. g.	510
122	v. g.	1540	v. g.	1960
123	r. g.	2060	v. g.	4240
124	v. g.	900	v. g.	1000
125	—	—	—	—
126	n. g.	—	v. g.	3160
127	n. g.	—	v. g.	900
128	v. g.	412	v. g.	502
129	—	—	—	—
130	n. g.	1420	v. g.	480
131	v. g.	1800	v. g.	1720
132	n. g.	—	v. g.	1800
133	n. g.	—	v. g.	1520
134	r. g.	560	v. g.	980

v. g. of CO_2 column is not so fully developed as v. g. in air and may be considered a good growth.

In most cases there is a vigorus growth which is noted in the table, wet this vigorous growth is not so far advanced as that in the air plates. The action of carbon dioxide is slight as compared with the preceding tables. While four out of fifteen have failed to develop, still six of he previously retarded have developed vigorously. Nos. 123 and 130 which have been so susceptible to the action of free carbon dioxide now present colonies of slow development. The conclusion therefore to be drawn from this table is the amount of carbon dioxide used approximates the border line between carbon dioxide as it exists in an active form and where it begins to manifest little influence upon the development of bacteria.

It is noteworthy that the percentages of carbon dioxide which just inhibits stands so near to the percentages of carbon dioxide of the pumped gases obtained from milk by the aërating methods employed as described in the foregoing pages. We are led to believe that some relationship exists between the carbon dioxide content of milk and the rate of fermentations evolved through the agency of bacteria. This conclusion will be more strongly enforced in the tables which follow.

(Schluß folgt.)

Zur Biochemie der Holzpilze.

Von Ingenieur **Josef Schorstein**, Wien.

In Verfolgung bautechnischer Zwecke nahm ich mit verschiedenen Holzstücken künstliche Infektionen mit Hymenomycetenkulturen vor, um durch das ungleiche Verhalten von Holzstücken der gleichen Baumart gegenüber den Angriffen dieser Pilze die Bonität der ersteren, bezw. deren Widerstandsfähigkeit konstatieren zu können.

Nach stattgefundener Invasion der Hyphen in die Holzkörper bemühte ich mich lange vergebens, mittels des Polarisationsmikroskopes die durch die Pilzenzyme hervorgerufene Aenderung des Chemismus der Substrate nachzuweisen.

Ich glaubte, mit Rücksicht auf die von R. Hartig oft konstatierte Beobachtung, daß manche verpilzte Hölzer, mikrochemisch behandelt, stellenweise „Cellulosereaktion" zeigen — durch das anisotrope Verhalten des Dextrosans solche Unterschiede wahrnehmen zu können. Allein dieselben ließen sich weder bei künstlich verpilzten noch bei natürlich verfaulten Hölzern finden. Von der Ueberzeugung geleitet, daß die Lebensthätigkeit der Pilzhyphen bedeutende chemische Veränderungen im Holzkörper bewirken muß, suchte ich nun andere Mittel zur Erkennung derselben. Die Czapek'sche Entdeckung[1]), daß es Pilze giebt, die die „ätherartige Verbindung zwischen dem Hadromal und der Cellulose" spalten, und das Hadromal freimachen, so daß es durch Alkohol oder andere Lösungsmittel in größeren Mengen extrahierbar wird, wie sich durch die Phloroglucin-ClH-Reaktion in der Kälte nachweisen läßt, war für meine Zwecke aus 2 Gründen unbrauchbar. Erstens ist auch in pilzfreien Hölzern mehr oder weniger ungebundenes, durch Alkohol ausziehbares Hadromal enthalten. Zweitens macht dasselbe nur etwa 2 Proz. der gesamten Holztrockensubstanz aus, weshalb ihm die Wichtigkeit gar nicht zukommt, die es in der Litteratur infolge seiner prächtigen Farbenreaktionen noch heute, mehr aber noch vor seiner Isolierung durch Czapek, in Anspruch genommen hat, wo man es mit Vanillin, Zimmtaldehyd, Coniferin etc. verwechselte, und als sich noch eine ansehnliche Reihe von Forschern mit seiner Entlarvung befaßte.

Meine Vermutung, daß die Polarisation der alkalischen Holzextrakte Neues ergeben dürfte, bestätigte sich. Es wurden Picea excelsa, Pinus sylvestris und Fraxinus excelsior mit einem den Agaricineen angehörigen Holzpilze (der parasitische und saprophytische Fähigkeiten gleichzeitig besaß), von mir infiziert, und sodann geraspelt und mit 5-proz. (dann mit 10-proz.) Natronlauge kochend extrahiert. Nach Entfärbung der Extrakte mit Blutkohle wurden dieselben im Halbschattenpolarisationsapparate

1) Zur Biologie der holzbewohnenden Pilze. (Berichte d. Deutsch. Bot. Ges. Bd. XVII. 1899.) Dann: Congrès intern. de Botanique à l'Exposition Univ. 1900. (Extr. du Compte rendu. p. 14—18) und Sitzungsber. d. D. nat.-med. V. „Lotos". 1898. No. 7. Friedr. Czapek: Zur Chemie der Holzsubstanz).

untersucht, wobei sich zeigte, daß dieselben eine optische Aktivität nicht besaßen, während jene der normalen und anatomisch äquivalenten Holzstücke, die auf ganz gleiche Weise erzeugt worden waren, eine ihrem Xylangehalte entsprechende Linksdrehung zeigten.

Es muß daher der Pilz in den ersten Tagen seiner Thätigkeit dem Holze das Xylan entzogen haben, und es dürfte diese Eigenschaft des Blätterschwamms allen Hymenomyceten zukommen.

Es braucht hier kaum erinnert zu werden [1]), daß das Holzgummi (Xylan), welches bei dieser Behandlung in Lösung geht, eine spezifische Drehung $\alpha_{(D)} = -84^0$ besitzt, in allen Hölzern vorkommt und 8—30 Proz. der gesamten Trockensubstanz ausmacht, und daß dasselbe sich annähernd glatt zu einer Pentose hydrolysieren läßt, so, daß es also als das Anhydrid einer solchen (der Xylose) somit als Pentosan aufzufassen ist. Die von Tollens angegebenen, verhältnismäßig leicht ausführbaren, quantitativen Pentosanbestimmungen [2]) ermöglichen eine rasche Kontrolle für die eben vorgebrachten Schlüsse, doch war ich bisher noch nicht in der Lage, diese Analysen durchzuführen. Dieselben wären der Polarisation, wenn genügend Zeit vorhanden ist, eigentlich vorzuziehen, da man dann von störenden optischen Eigenschaften der alkalischen Amylumlösungen unabhängig ist. Es darf auch nicht übersehen werden, daß es sowohl rechts- als auch linksdrehende Harzbestandteile giebt, die durch Natronlauge in Aktion treten.

Will man aber kürzehalber polarisieren, so befolge man den Rat Thomsen's bezüglich der Vorbehandlung der Holzspäne mit Ammoniakwasser behufs Entfernung der Farbstoffe und Eiweißverbindungen, da Entfärbungsprozeduren späterhin schwieriger sind, indem die Blutkohle ja in saurer Lösung nicht zur Anwendung kommen darf, um das Xylan nicht auszufällen.

Robert Hartig [3]) giebt für Merulius lacrymans, Polyporus vaporarius und Polyporus sulphureus an, daß dieselben das Xylan ihres Substrates nicht angreifen.

Ich hatte bisher nur Gelegenheit, Einen dieser 3 Xylophagen auf diese Eigenschaft hin zu prüfen, und kann Hartig's Behauptung bezüglich des Merulius lacrymans als unrichtig bezeichnen. Man ist nicht imstande, aus einem von Hausschwamm zerstörten Holze Xylan darzustellen, noch die Tollens'sche Pentosenreaktion [4]) nach vorgenommener Hydrolisierung mit ClH, mit Phloroglucin + ClH in der Wärme zu erzielen.

Dem Rate Professor Dr. Friedrich Czapek's folgend, beabsichtige ich jetzt, Hymenomycetenmycele auf Holzgummi [5]) und parallel auf Holzspänen zu kultivieren, um weitere Beweise für den Nährwert der Pentosane für diese Xylophagen zu gewinnen. Die Versuche haben bereits begonnen.

---

1) Conf. Tollens, Kurzes Handbuch der Kohlenhydrate. Bd. II. p. 201 und Thomsen, Journal f. prakt. Chemie. Bd. XIX. p. 146.
2) Journal für Landwirtschaft. Bd. XLIV. Heft 2. p. 175. Jahrg. 1896.
3) Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten. 3. Aufl. Berlin (Springer) 1900.
4) Journal für Landwirtschaft. l. c. p. 175.
5) Aus der Fabrik von Dr. Th. Schuchardt, Görlitz.

Referate.

Grüss, J., Ueber Oxydase-Erscheinungen der Hefe. (Wochenschr. Brauerei. Jahrg. 18. No. 24.)

In der Hefe ist ein oxydierendes Ferment bisher nur vermutet worden. Verf. giebt einen kurzen Ueberblick über die wenigen vorliegenden Arbeiten, deren keine in Wirklichkeit die Oxydase trifft, wenigstens erfüllt keine die Forderungen, die Verf. mit dem Begriffe Oxydase verbindet, nämlich:

1) Der Körper nimmt aus der Luft freien Sauerstoff auf, welcher sich aber nicht mit ihm vereinigt, sondern auf einen anderen Körper, auf ein Substrat übertragen wird; letzteres wird bei dem Vorgang oxydiert.

2) Dieser Oxydationsvorgang erfolgt fortgesetzt; nimmt man das oxydierte Substrat hinweg und bringt neue Mengen desselben hinzu, so werden auch diese oxydiert.

3) Durch Erhöhung der Temperatur wird die Sauerstoff-übertragende Eigenschaft verändert und erlischt schließlich.

Verf. ist es zwar nicht gelungen, die in der Hefe vorkommende Oxydase zu isolieren, doch zeigt er den Weg, auf dem dies geschehen könnte, beschränkte Arbeitsverhältnisse hindern Verf., diesen Weg selbst zu gehen. Die Operationen sind an der lebenden Zelle durchgeführt.

Verf. berichtet zuerst über „Die Methode des Nachweises oxydasischer Erscheinungen bei der Hefe". Hefeoxydase wirkt auf Guajak nicht ein. Das Ausbleiben der Blaufärbung läßt aber darauf schließen, daß kein auf Guajak reagierendes Enzym, welches also der Laccase an die Seite zu stellen wäre, in der Hefezelle zugegen ist, oder aber es muß in der letzteren ein deckender Körper vorhanden sein. Letzteres ist aber nicht der Fall, da die Hefe nach Aufnahme von Diastase die Guajak-Wasserstoffsuperoxydreaktion giebt, ein deckender Körper also nicht vorhanden sein kann.

Hingegen wird Tetramethylparaphenylendiaminchlorid durch die Hefe oxydiert. Das Reagens wendet Verf. folgendermaßen an: Ein Körnchen des genannten aromatischen Körpers von der Größe eines Stecknadelkopfes wird in 4 ccm Wasser gelöst. Mit dieser Lösung wird ein Stück Filtrierpapier, am besten in einer Petrischale, getränkt und ohne Zeitverlust eine kleine Menge Hefe auf diesem „Tetrapapier" in dünner Schicht ausgebreitet.

Die Erscheinungen, die eintreten können, sind nach Verf. folgende:

1) Die Hefe bleibt farblos und das Reagenspapier wird allmählich schwach violett; nach einiger Zeit kann sich um die Hefe eine farblose Zone ausbilden.

2) Die Hefe umsäumt sich mit einem violetten Rand. Derselbe bleibt entweder hellviolett, hebt sich aber immer noch von dem Reagenspapier ab oder er wird allmählich intensiver, fast schwarz und rückt centripetal nach der Mitte vor.

3) Die Hefe wird allmählich in ihrer ganzen Masse violett. Die Intensität der Farbe kann bis zum schwarz-violett steigen.

4) An der sich violett färbenden Hefe kann ein heller Saum erscheinen.

5) Bei Anwendung getrockneter oder auf Gelatine gezüchteter Hefe kann sich um die Hefekörnchen auf dem sich ganz schwach färbenden Reagenspapier eine farblose Zone ausbilden, wobei dann die Hefestückchen selbst entweder farblos bleiben oder unregelmäßig stark violett werden können.

6) Die Violettfärbung kann sehr langsam und allmählich oder auch sofort eintreten.

Auf Tetrasodapapier, hergestellt aus 6 Teilen obiger Lösung + 1 Teil gesättigter Sodalösung, treten gleichfalls für eine Oxydaseuntersuchung charakteristische Erscheinungen ein.

Diese Erscheinungen, in gewissem Grade wechselnd, sind abhängig von dem physiologischen Zustande der Hefe, und zwar so, daß mit ziemlicher Sicherheit aus der Reaktion auf den physiologischen Zustande oder umgekehrt aus dem physiologischen Zustande auf den Ausfall der Reaktion geschlossen werden kann.

Aus weiteren interessanten Versuchen des Verf.'s geht hervor, daß Hefe fortgesetzt als Sauerstoffübertrager auftritt, daß dieselbe also in ähnlichem Sinne wirkt wie Essigsäurebakterien und andere Fermente.

Die Frage, ob in ober- oder untergäriger Hefe ein verschiedenes Enzym wirke, beantwortet Verf. dahin, daß nach dem Verhalten zweier, aus je einer Zelle unter gleichen Bedingungen gezüchteten Hefen zu Tetra- bezw. Tetrasodapapier eine wesentliche Verschiedenheit nicht festzustellen sei.

Während der Gärung entsteht ein Reduktionskörper, der sowohl auf Tetrapapier, als auch auf Tetrasodapapier eine Oxydasewirkung verhindert. Dieser Reduktionskörper, dessen chemische Beschaffenheit noch unbekannt ist, kann mit Glycerin extrahiert werden.

Im 2. Teile der Abhandlung bespricht Verf. die Beziehungen der oxydasischen Erscheinungen zu dem physiologischen Zustande der Hefezelle. So hängt z. B. von den Bedingungen, unter denen die Hefezellen aufgezogen sind, ab, ob sie in neutraler Lösung oder in Gegenwart von Soda ihre oxydasische Wirkung zeigen.

Beim Lagern war aus einer Hefe, die aus der Gärflüssigkeit genommen worden war und nach sorgfältigem Abpressen mit Filtrierpapier bei 3° gehalten wurde, der Reduktionskörper allmählich verschwunden, während die in der Gärflüssigkeit verbleibende und bei 3° gehaltene Hefe keinerlei Wirkung auf Tetrapapier zeigte. Dabei waren die in der Gärflüssigkeit verbliebenen Zellen mit einem körnigen Plasma gefüllt, die gelagerten Zellen hingegen enthielten Vakuolen. Auf Grund dieses und weiterer beschriebener Versuche kommt Verf. zu dem Schlusse, daß die Hefezellen „kurz nach der Gärthätigkeit mit einem Reduktionskörper derartig angefüllt sind, daß ihre oxydasische Wirkung einem Reagens gegenüber verhindert wird. Nachdem der Vakuolenzustand eingetreten ist, erfolgt die Aenderung dieses pseudo-anoxydasischen Zustandes, indem die Zellen auf ein geeignetes Reagens einwirken. Durch die Einwirkung

des freien Sauerstoffs auf die Vakuolen enthaltenden Zellen erfolgt eine zweite Aenderung des oxydasischen Zustandes, was sich durch eine entsprechende Aenderung den Reagentien gegenüber verfolgen läßt.“

Vor der Sporenbildung wird zunächst der Reduktionskörper vernichtet, und wenn die Sporenbildung vor sich geht, erfährt auch die Oxydasemenge eine Abnahme, die endlich vielleicht gänzlich oder bis auf Reste verschwindet.

Der Reduktionskörper entsteht während der Gärung und hindert dann eine Reaktion auf Tetrapapier wie auf Tetrasodapapier.

Hefe, die zu drei Lösungen von je 15 Proz. Rohrzucker, Lävulose und Glukose gegeben und darin 24 Stunden belassen wurde, dann eine 72-stündige Lagerzeit durchgemacht hatte, reagierte in allen Fällen auf Tetrasodapapier, schwach und langsam die durch Rohrzucker und Glukose, stark die durch Lävulose gegangene. In allen drei Hefen war Neubildung von Glykogen erfolgt, am wenigsten in derjenigen, welche durch Lävuloselösung gegangen war. Demgemäß entspricht die Glukogenbildung derjenigen des Reduktionskörpers.

Wie die verschiedenen Temperaturen auf die physiologischen Vorgänge der Zelle einwirken, so konnte Verf. auch eine Wirkung auf die oxydasische Kraft feststellen, sowohl bei Temperaturen, die dem Gefrierpunkt naheliegen, als auch durch höhere Temperaturen. Bei 40° trat noch $^3/_4$-Wirkung ein, bei 50° $^1/_2$-Wirkung. Bei 60° trat nur noch schwache Wirkung ein, die bei 65° ausblieb.

Aus den Versuchen, die das höchst wichtige Verhalten der Oxydase zu Alkohol klarstellen sollten, ergab sich, daß 20-proz. Alkohol bei 24-stündiger Einwirkung eine entschiedene Schwächung verursachte, die um so größer wurde, je stärker konzentrierter Alkohol verwandt wurde. 90-proz. Alkohol hob die oxydasische Wirkung der Hefe nach 24-stündigem Verweilen auf.

Bode (Berlin).

Heinze, B., Einiges über die Krankheiten und Fehler beim Weine, unter besonderer Berücksichtigung der Infektionskrankheiten desselben. (Sep.-Abdr. a. d. Hygienischen Rundschau. 1901. No. 7 u. 8. 42 p.)

Fast allen den Störungen, welche bei der Weinbereitung — beim Werden des Weines von der Traube bis zur Flaschenreife, im Fasse und selbst noch auf der Flasche — auftreten können und als Weinkrankheiten und Weinfehler bekannt sind, liegen keine anderen Ursachen als Organismenwirkungen zu Grunde. Mit einigen wenigen Ausnahmen sind Weinkrankheiten und Weinfehler jedenfalls erst eine Folge der Thätigkeit von allerhand niederen Organismen, von Schimmelpilzen, Kahmpilzen, Hefen und Bakterien. Verf. bespricht nun in der vorliegenden interessanten Abhandlung die verschiedenartigen Krankheiten und Fehler des Weines eingehender und führt zuerst die hauptsächlichsten Punkte in Bezug auf das Werden des Weines an, da sich aus ihnen schon mancherlei Schlüsse auf die Störungen ziehen lassen, welche beim Weine von

der Traube bis zur Flasche und weiterhin auf der Flasche selbst noch eintreten können. Demgemäß behandelt:

Kapitel I. Einige allgemeine und besondere Daten über die Weinbereitung.

A. Die Gärungen im allgemeinen und im besonderen.

Die Bedeutung der Reinhefe für die Weingärung.

Der Verlauf der Gärung und der Einfluß der Temperatur.

Der Einfluß der Luft auf die Gärung und den Wein.

B. Das Ablassen der Weine und ihre Erziehung zur Flaschenreife.

C. Die Schönung, ihr Wesen und ihre Anwendung.

Kapitel II. Die speziellen Krankheiten und Fehler des Weines; ihre Aetiologie und Therapie.

Essigstich. Mausgeschmack oder Mäuseln des Weines. Der Milchsäurestich. Mannitkrankheit des Weines. Das Umschlagen oder Brechen der Weine. Das Bitterwerden des Weines. Der Schimmelgeschmack des Weines. Der Böcksergeschmack oder das Böcksern des Weines. Die Schwefelsäurefirne. Das Schwarzwerden des Weines.

Kapitel III. Die Weinkrankheiten und der menschliche Organismus.

Schluß.

Auf die Einzelheiten der sehr interessanten Abhandlung kann aus Mangel an Raum hier nicht näher eingegangen werden.

Otto (Proskau).

Tassi, F., Una nuova specie di Nectria. (Bullet. Laborat. ed Orto botan. Siena. Vol. III. 1900. p. 115—116. Mit 1 Taf.)

Auf der Außenwand eines Blumentopfes, ganz überzogen von Oscillarienfäden, beobachtete Verf. die gelblich-orangeroten Perithecien einer Nectria von kugeliger Form, mit elliptischer Oeffnung im Centrum, einer Abplattung oben, mit schleimiger, fädiger Hülle am Grunde.

Als neue Art erhält vorliegende Nectria nachfolgende Diagnose: „Peritheciis sparsis, raro confluentibus, superficialibus, globulosis, $^1/_4$—$^1/_3$ mm diam., primo melleis, tandem aurantiacis, medio umbilicato-pertusis; ostiolo elliptico, 25—30 μ long., 8—10 μ lat., contextu ceraceo-membranaceo celluloso, pallide aurantiaco; subiculo basilari, tenui; hyphulae hyalinae, plus minusve assurgentes vel repentes, haud raro conidia ovata, acrogena, 6—8 $\asymp$ 4 μ gerentes; ascis octosporis, tereticlavulatis, sessilibus, aparaphysatis, membrana statim evanescente donatis, 60—70 $\asymp$ 15—16 μ; sporidiis distichis, oblongo-ellipsoideis, uniseptatis ad septum leniter constrictis, 14—16 $\asymp$ 6—8 μ, granulis copiosis repletis, hyalinis." N. phycophila Fl. Tass. Im botanischen Garten zu Siena.

Solla (Triest).

Tubeuf, C. von, Studien über die Brandkrankheiten des Getreides und deren Bekämpfung. Mit 1 Taf. (Arbeiten aus der biol. Abteilung am K. Gesundheitsamt. Bd. II. Heft 2. Berlin 1901. p. 179 ff.)

In seiner Einleitung macht Verf. aufmerksam auf die großen

Lücken, welche unser Wissen über die Brandformen der Getreidearten und ihr Auftreten noch aufweist. Seine eigenen Studien berücksichtigen vor allem das dem Brand am meisten ausgesetzte Brotgetreide, den Weizen, ohne doch Gerste und Hafer ganz auszuschließen. Von besonderem Interesse, auch vom rein wissenschaftlichen Standpunkte aus, sind der II., III. und IV. Teil seiner Arbeit, welche die Prädisposition der verschiedenen Weizensorten zur Erkrankung behandeln, neue Beiträge zur Kenntnis der Biologie des Steinbrandes liefern und endlich dem Haferbrand gewidmet sind. Der I. Teil behandelt Laboratoriums- und Feldversuche zur Bekämpfung des Brandes durch Behandlung des Saatgutes mit Desinfektionsmitteln.

Von solchen wurden geprüft Formaldehyd, heißes Wasser und Kupfervitriollösungen. Formaldehydgas, entwickelt durch Vergasung Schering'scher Pastillen auf einer Schering'schen Lampe, tötet die Sporen der Brandpilze ebenso wie das Mycel und die Sporen der gewöhnlichen Schimmelpilze, aber nur wenn die Sporen ganz oberflächlich liegen. Schon bei Vorliegen mehrerer Schichten von Getreidekörnern und noch viel mehr bei Verwendung ganzer Aehren war die Desinfektion ganz ungenügend. Auch von Schimmelpilzen wurde nur das oberflächlich wuchernde, nicht das im Innern des Nährsubstrats wuchernde Mycel durch Formalingas getötet. Das Getreide selbst wird durch eine zum Töten der Brandsporen genügende Formalingasbehandlung noch nicht in seiner Keimfähigkeit geschädigt, wenigstens wenn es im ungequollenen Zustande verwendet wird. Besser wirkte Formalin in wässeriger Lösung, insofern wenigstens Lösungen von 0,1 Proz. Formaldehydgehalt bei 4-stündiger Einwirkung die Keimkraft nicht schädigten. Immerhin ist vorheriges Auswaschen des Getreides mit Wasser und schnelles Abtrocknen nach der Beize zu empfehlen.

Bezüglich der Wirkung heißen Wassers auf die Keimfähigkeit des Getreides kommt Verf. zu dem die zum Teil widersprechenden Versuchsresultate der bisherigen Untersucher bestätigenden Ergebnis, daß Gerste im allgemeinen am empfindlichsten ist, und daß bei ihr auch die größten Verschiedenheiten im Verhalten der einzelnen Sorten bestehen. Allgemein wird die Keimung durch die Heißwasserbehandlung verzögert und zwar um so mehr, je länger die letztere dauerte.

Bezüglich der vielfach verwendeten Kupfervitriolbeize berichtigt Tubeuf zunächst die allgemeine Annahme, als handle es sich bei derselben um eine Abtötung der Brandsporen. Das ist nicht der Fall, viele Sporen überleben die Beize und keimen unter günstigen Bedingungen, wenn nur das Kupfersalz vorher entfernt wird. Verf. trägt daher auch für die Kupfervitriolbeize der Getreidesaat die Auffassung vor, daß es sich nicht um Abtötung der Brandsporen, sondern um Verhinderung ihrer Keimung handelt, daß also die Kupfervitriolbeize wirke wie die Bespritzung mit den bekannten Kupfermitteln, speziell Kupferkalkbrühe, gegen Peronosporeen und Fusicladium. Er ventiliert dementsprechend auch den Gedanken und stellt Versuche darüber in Aussicht, die Kupfer-

vitriolbeize mit nachfolgendem Waschen durch Kandieren des Saatgutes mit Kupferkalkbrühe zu ersetzen.

Weiter studiert Verf. näher die schon seit Nobbe bekannte, vielfach aber zu wenig berücksichtigte Schädigung der Keimung durch anhaftendes Kupfervitriol, also bei nach der Beize nicht gewaschenem oder nicht mit Kalk behandeltem Saatgut. Die Schädigung trifft ausschließlich die Wurzeln, die vielfach überhaupt nicht entwickelt werden. Besonders empfindlich sind Gerste und Hafer, bei denen selbst nachträgliche Kalkbehandlung die Schädigung nicht aufhebt. Bei Kultur der gebeizten Körner auf verschiedenen Substraten tritt die Schädigung am meisten auf Fließpapier, weniger in Sand und am wenigsten in Erde, besonders kalkhaltiger Erde hervor. Kandieren mit Bordelaiser Brühe schädigt die Keimung nicht. Bei exakten Versuchen über die Wirkung des Beizens auf Flegel- und Maschinendrusch-Weizen stand nach Auslesung der sichtlich verletzten Körner ersterer dem mit der Hand ausgeriebenem Weizen bezüglich der Empfindlichkeit nur wenig nach. Dagegen ist Maschinendrusch durch Kupfervitriolbeize sehr gefährdet, selbst bei nachfolgender Kalkung oder bei Keimung in Ackerboden.

Die Feldversuche bestätigen im wesentlichen die Ergebnisse der Laboratoriumsversuche.

Der 2. Teil behandelt, wie schon erwähnt, die Prädisposition verschiedener Weizensorten. Verf. gebührt das Verdienst, hier überhaupt die ersten exakten Versuche über die Frage der verschiedenen Prädisposition zur Erkrankung bei verschiedenen Varietäten einer Kulturpflanze mitgeteilt zu haben. Die Sorten wurden gleich stark mit Brandsporen infiziert und dann nebeneinander unter gleichartigen Verhältnissen (Saatstärke, Düngung etc.) gebaut.

Unter 8 so gebauten Sorten erwies sich als am wenigsten zu Steinbrand neigend amerikanischer Ohio-Weizen (unter 1 Proz. der Aehren erkrankt), als am stärksten prädisponiert Strube's Grannenweizen (ca. 60 Proz. erkrankt). Ob diese Eigenschaft aber, wie kaum wahrscheinlich, auch unter anderen Verhältnissen konstant ist, müssen weitere Versuche lehren. Wie unter den Sorten selbst, so werden auch unter den Individuen einer Sorte Verschiedenheiten in Bezug auf die Disposition für Steinbrand bestehen, da sonst bei der reichlichen Infektion (1 g Brandsporen auf 4000 Körner Aussaat) voraussichtlich alle Pflanzen hätten befallen werden müssen. Verf. gründet auf diese Ueberlegung Versuche über die Möglichkeit der Züchtung brandunempfindlicher Rassen, Versuche, die indes erst nach Jahren Ergebnisse liefern können.

Der 3. Teil, der über die Biologie des Weizenbrandpilze handelt, beschäftigt sich zunächst mit dem Verhalten der Brandsporen im Boden, bei den Desinfektions- und Fütterungsversuchen. Die letzteren bestätigen, wie gleich vorausgeschickt sein mag, die vielfach verbreitete Meinung von der Giftigkeit des Brandes für Haustiere nicht. Im übrigen zieht Verf. aus seinen Versuchen folgende Schlüsse, die zum Teil im Gegensatz zu den Annahmen Brefeld's stehen: Eine Verbreitung des Steinbrandes durch Luft-

conidien von Beet zu Beet fand nicht statt. Eine Düngung mit Kuhkot hatte eine Vermehrung des Steinbrandauftretens nicht zur Folge. Das war nach Ansicht des Verf.'s anders bezüglich des Staubbrandes (Ustilago tritici). Da die absolute Zahl staubbrandbefallener Aehren aber überall sehr gering war, hält Ref. diesen Schluß nicht für genügend begründet.

Nach Brefeld's Ansicht sind bekanntlich die durchs Futter in den Mist und mit diesem aufs Feld gelangenden Brandsporen besonders gefährlich, weil sie in diesem keimen und Conidien bilden. Tubeuf's Fütterungsversuche lehrten aber, daß die Brandsporen in Mist oder Mistabsuden übenhaupt nicht oder abnorm keimen, ja, daß durch den Tierkörper gegangene Sporen in ihrer Keimfähigkeit geschwächt sind. Auch im Boden erhalten sich die Brandsporen nicht über Winter, weder die des Stein- noch die des Flugbrandes. Mit diesen beiden Nachweisen fällt Brefeld's Ansicht, und der besonders starke Befall stark mit Mist etc. gedüngten Weizens erklärt sich wohl aus einer größeren, durch die Stickstoffdüngung verursachten Prädisposition, die wohl mit der den Abschluß der Vegetation verzögernden Wirkung des Stickstoffs zusammenhängen könnte.

Verf. untersuchte weiter, wodurch die erwähnte Schwächung der Keimkraft der Brandsporen bei Durchgang durch den tierischen Darmkanal bewirkt wird. Die Temperatur in diesen erwies sich als wenig schädlich. Vielmehr dürfte der Kot spezifische Substanzen enthalten, welche die Keimung verhindern; nach dem Auswaschen gelang es vielfach noch normale Keimung bei einem gewissen Prozentsatz der durch den Darmkanal gegangenen Sporen zu erhalten.

Verf. hat weiter die Keimung des Steinbrandes untersucht. Auf Gelatine gelingt es leicht, Reinkulturen zu erhalten. Die Keimung ist verschieden nach der Konzentration der Gelatine und je nach dem Zusatz von Nährlösungen. Auf starker Gelatine (20-proz.) ist die Keimung meist abnorm; die Sporen schwellen sehr stark an und bildet 1 bis viele unförmliche Auswüchse, die aber kurz bleiben. Ragt einer davon in die Luft, so bilden sich an ihm wohl auch Kranzkörper. In weniger konzentrierter reiner Gelatine ist die Keimung normal mit einem Keimschlauch. Ist der Gelatine noch etwas Malzextrakt beigemischt, so tritt ebenfalls normale Keimung aus; nur ist die Keimhyphe reicher an Plasma, manchmal entleeren sich die älteren Partieen überhaupt nicht. Bildung von Gemmen (Brefeld's Dauersporen) wurde auf Nährgelatine vielfach beobachtet, schon im primären Mycel.

Das Temperaturminimum für die Keimung des Steinbrandes wurde bei ca. 5—8,5° C gefunden. Niedere Temperaturen, auch Gefrieren, vernichten das Keimungsvermögen bei später auftretenden günstigeren Temperaturverhältnissen nicht.

Im 4. Teil wird ein Beitrag zur Kenntnis des Haferbrandes geliefert. Nach Brefeld wird der Grad der Branderkrankung des Hafers beinflußt einmal von der Art der Düngung, ferner von der Temperatur während der Keimungs- und zugleich Infektions-

periode. Frischer Stalldünger soll, wie bereits erwähnt, die Gefahr dadurch steigern, daß er Gelegenheit zu reicherer Conidienbildung liefert. Da aber Hafer fast nie in frischem Dung gebaut wird, so fällt diese Gefahr in praxi fort. Die Temperatur während der Jugendperiode des Hafers, in der allein die Infektion möglich ist, soll nach Brefeld insofern den Befall beeinflussen, als bei ca. 17° kein Brand mehr auftritt, mehr bei niederer und zwar deshalb, weil die höhere Temperatur die Haferpflanzen im Wachstum verhältnismäßig günstiger beeinflußt als den Pilz. Dementsprechend wird für Hafer vielfach spätere Bestellung, weil es dann wärmer sei, empfohlen. So von Frank. Demgegenüber stehen bereits die von Herzberg festgestellten Temperaturgrenzen der Keimfähigkeit von Ustilago avenae (Minimum zwischen 5 und 11°, Optimum zwischen 22 und 30°, Maximum zwischen 30 und 35°), und Verf. konnte dementsprechend durch Aussaatversuche brandbestäubter Haferkörner, die dann bei verschiedenen Temperaturen gehalten wurden, exakt nachweisen, daß ceteris paribus die Brandgefahr um so größer ist, je höher die Temperatur bei der Keimungsperiode sich hält. Bei Temperaturen unter 7° C trat überhaupt keine Infektion auf. Dementsprechend kann späte Aussaat des Hafers die Brandgefahr nicht verringern; es muß sogar um so mehr vor ihr gewarnt werden, als mit ihr die Gefahr der Schädigung durch die Fritfliege steigt.

Die beigefügte Tafel illustriert die schädigende Wirkung des Kupfersalzes auf die Art der Keimung bei Hafer und Gerste.

Behrens (Augustenberg).

Heinricher, E., Notiz zur Frage nach der Bakterienfäule der Kartoffeln. (Ber. d. D. Bot. Ges. Bd. XX. p. 156—159.)

Anknüpfend an die letzten Mitteilungen Appel's über die Bakterienfäule der Kartoffeln berichtet Verf. über eine offenbar durch Bakterien verursachte Fäule des Rhizoms von Iris pallida, welche er bei seinen zahlreichen Kulturversuchen mit dieser Pflanze mehr oder weniger regelmäßig beobachtet hat.

Das Rhizom erleidet dabei eine jauchige Zersetzung. Teile der jauchigen Masse in Einschnitte an gesunden Rhizomen übertragen, hatten auch hier einen schnell um sich greifenden Fäulnisprozeß zur Folge. Auch Kartoffeln wurden mit Erfolg infiziert. Verf. bietet etwaigen Interessenten lebendes Material an.

Neger (Eisenach).

Arthur, J. C. and Holway, E. W. D., Violet rusts of North America (l. c. p. 631—641. With plate XLVII.)

Aecidium pedatatum (Schw.) A. et Holw., eine heteröcische Species, die wahrscheinlich ihre weitere Entwickelung auf Rietgräsern durchmacht. Spermogonien und Aecidien auf Viola obliqua, V. ovata, V. sagittata, V. pedata, V. pedatifida, V. primulaefolia, V. Nuttallii, V. striata, V. tricolor.

Puccinia Violae (Schim.) DC. Spermogonien, Aecidien, Uredo und Teleutosporen auf: Viola obliqua, V. rotundifolia, V. renifolia, V. septentrionalis, V. blanda, V. primulaefolia, V. lanceolata, V. cognata, V. adunca, V. glabella, V. ocellata, V. Montanensis, V. Canadensis, V. striata, V. rostrata, V. Labradorica, V. arenaria, V. hastata, V. pubescens, V. scabriuscula etc.

Puccinia effusa D. et H. Aecidien und Teleutosporen auf Viola lobata und V. Nuttallii. Ludwig (Greiz).

De Franciscis, F., Sulla presenza dell' Ustilago violacea nei fiori di Melandrium pratense. (Bullett. Soc. botan. ital. Firenze 1901. p. 261—266.)

Entgegen einer Aeußerung von Tulasne (1897), welche sich auch in Saccardo's Sylloge wiedergegeben findet, erwähnt Verf., daß er zahlreiche Blüten von Melandrium pratense Roehl. untersucht, aber niemals irgend welche Beschädigung ihres Gynäceums durch die antherenbewohnende Ustilago violacea Pers. beobachtet habe. Auch hat Verf. den Pilz weit seltener auf anderen Caryophylleen angetroffen, als im allgemeinen angegeben wird. Selten bei Saponaria officinalis, niemals bei Silene Cucubalus, welche doch zahlreich unter Pflanzen des Melandrium gemengt war. Dies nimmt ihn um so mehr wunder, als die Sporen von U. violacea und die von U. Vaillantii (parasitisch in den Antheren von Muscari comosum) von Cetonia hirtella massenhaft verschleppt werden.

U. violacea kommt mit besonderer Vorliebe in den Zwitterblüten von Melandrium pratense vor, so daß keine einzige Zwitterblüte frei von dem Pilze gefunden werden kann. Dagegen ist das Auftreten des Pilzes in männlichen Blüten derselben Pflanzen, je nach dem Klima und nach der Natur der Umgebung, ein variables. Zu Beginn des Frühjahres sind 90 Proz. der männlichen Blüten von dem Pilze befallen; mit zunehmender Temperatur bemerkt man eine sichtliche Abnahme des Pilzes; bei 15—16° C ist Ustilago sehr selten in den Blüten, oder gar ganz aus denselben verschwunden: wenn nur auch die Verhältnisse der Umgebung für Melandrium günstig sind.

Die Zwitterblüten des Melandrium verhalten sich das ganze Jahr hindurch unabänderlich gleich; alle sind stets vom Pilze frequentiert. Ihr Gynaeceum ist unvollständig entwickelt; nur selten gelangen wenige Samen zur Ausbildung; woraus zu schließen wäre, daß die Pflanze sich nur auf agamem Wege fortpflanzt. Diese Pflanzen sind übrigens nicht gar zu selten; doch mit der Deutung, welche Magnin (1889 und 1891) dafür giebt, erklärt sich Verf. nicht einverstanden. Er vermutet vielmehr, daß reichliche Nahrungszufuhr eine Menge von Sexualelementen, bei Pflanzen und Tieren, hervorrufe. Diesbezüglich beruft er sich auf zwei Beobachtungen. Silene pendula, eine gynomonöcische und gynodiöcische Art, entwickelte weibliche Blüten, solange sie auf sterilem Boden wuchs; sobald dieselbe Pflanze in nahrungsreichen Boden

verpflanzt wurde, brachte sie Zwitterblüten hervor. Da aber die Bodenverhältnisse unverändert blieben, entwickelte die Pflanze allmählich, nach den Zwitterblüten, solche, die nur eingeschlechtlich, und zwar vorwiegend weiblich, waren. Dies im Verhältnisse zur Erschöpfung der Pflanze durch eine überaus üppige Blüten- und Fruchtentfaltung. — Viscaria vulgaris besitzt die Eigenschaft einer variablen Dichogamie; doch wurde die Pflanze, unter ungünstigen Verhältnissen, physiologisch diöcisch. Es sagt übrigens auch Magnin für Melandrium pratense aus, daß ein fertiler Boden vorwaltend weibliche, ein steriler eher männliche Melandrium-Exemplare hervorbringe.

Der Kern der Frage ruht nach Verf. darin, daß nicht die einzelnen Zwitterblüten die konstanten Gäste der U. violacea sind, sondern es ist die bisexuelle Pflanze das konstante Substrat des Pilzes. Von diesem Centrum aus verteilt sich die Epidemie nach allen Richtungen hin und sie greift selbst männliche Individuen an. Die letzteren geben aber nur ein zeitweiliges Substrat für U. violacea ab. — Welche besseren Lebensbedingungen der Pilz auf der Zwitterform finden möge, ist nicht einzusehen; andererseits ist es wenig wahrscheinlich, daß eine Pflanzenform sich in der Lage befinde, ihre Reproduktionsorgane zum Wohnsitze eines Schmarotzers darzubieten: diese Form müßte schon nach einer Generation verschwinden.

So bieten sich zwei Hypothesen dar: entweder stellen diese Pflanzenformen ein zufälliges Auftreten des ursprünglichen Zwitterstadiums dar, wie auch Magnin für die verwandte Art M. silvestre Roehl bemerkt hat, oder die Gegenwart von zweierlei Reproduktionsorganen in derselben Blüte ist thatsächlich einer parasitären Einwirkung zuzuschreiben.

Die erste der Hypothesen, wenn man sie auch nicht absolut gleich ausschließen kann, befriedigt nicht rücksichtlich der Genossenschaft mit dem Parasiten. — Für die zweite würde Verf. kein Bedenken tragen, die Bisexualität der Pflanze von dem Einflusse des Pilzes abhängig zu machen. Die Ansichten Magnin's über die Modalitäten der Herstellung einer Zweigeschlechtigkeit abweisend, hält er eher daran fest, daß der Schmarotzer eine Differentiation der Geschlechter im angegriffenen Keime verhindere. Dadurch würde der Einfluß nicht auf einzelne Blüten, sondern auf die ganze Pflanze zeitlebens sich erstrecken. So erklärt er auch das einigermaßen intermediäre Aussehen, im Habitus, der Zwitterpflanze von Melandrium pratense gegenüber den männlichen und den weiblichen Exemplaren. Solla (Triest).

Aderhold, R., Ueber Venturia Crataegi n. sp. (Ber. d. D. Bot. Ges. Bd. XX. p. 195—200. Taf. IX.)

Der bisher zu Venturia chlorospora (Ces.) Karst. gezogene, auf Crataegus oxyacantha wachsende Pilz — Conidien auf den Früchten, Perithecien auf den Blättern — ist nach Verf. als eigene, von den übrigen Venturia-Arten verschiedene Art aufzufassen und erhält den Namen V. Crataegi. Der Pilz überwintert so-

wohl als Fusicladium auf den Früchten wie als Venturia auf den Blättern. Bemerkenswert ist, daß zuweilen auch auf den Blättern die conidientragenden Stromata auftreten.

Neger (Eisenach).

Hegyi, Dezsö, A búza rozsdájának tanulmányozása. [Studien über den Weizenrost.] (Kisérletügyi Közlemónyek. Mitteilungen der Versuchsstationen. Bd. IV. 1901. Heft 4. p. 314—349.)

Die königl. ung. Versuchsstation für Pflanzenkrankheiten zu Magyar-Óvár beschäftigt sich seit dem Jahre 1900 mit dem Studium der in Ungarn auftretenden Weizenrostkrankheiten. Die Abhandlung enthält den ersten Jahresbericht (1900) über die vorgenommenen Untersuchungen.

Verf. konnte die Behauptungen Eriksson's über das Auftreten von „bakteroiden Körperchen" in der Umgebung der Rosthäufchen nicht bestätigen. Zur Feststellung der Verbreitung der Rostpilze wurden 600 Fragebogen ausgesendet, von welchen 144 zurückkamen. Außerdem wurden 41 rostkranke Weizenmuster eingeschickt, auf welchen sich in 39 Fällen Puccinia graminis Pers. in 25 Fällen P. triticina Eriks. und in 12 Fällen P. glumarum Eriks. et Henn. fand.

Außerdem wurden an verschiedenen Stellen des Landes zahlreiche (21) Versuchsfelder angelegt, um mit deren Hilfe sowohl das Auftreten der einzelnen Rostarten als auch die Widerstandsfähigkeit einzelner Weizensorten unter den verschiedenen klimatischen und Bodenverhältnissen festzustellen.

Den Hauptteil der Arbeit bilden die tabellarisch zusammengestellten Untersuchungsresultate der von diesen Versuchsfeldern gesammelten Proben. In 1120 Fällen wurde Puccinia rubigo-vera Winter [1]), in 541 Fällen P. graminis konstatiert; demzufolge wird P. rubigo-vera Wint. als die in Ungarn schädlichste Rostart des Weizens angesprochen. Als rostwiderstandsfähig erwiesen sich besonders zwei Weizenarten: „Somogyer kahler Weizen" und „Squarehead-Nachbau".

Die übrigen Ausführungen des Verf. sind nur von lokalem oder praktisch landwirtschaftlichem Interesse.

Francé (Aderstedt).

Ikeno, S., Studien über die Sporenbildung bei Taphrina Johannsoni Sad. (Flora. Bd. LXXXVIII. 1901. p. 229—237. Mit Taf. XIII.)

Verf. untersuchte die cytologischen Vorgänge bei der Sporenbildung in den Ascis von Taphrina Johannsoni und fand folgende bemerkenswerte Resultate, welche von analogen Erscheinungen bei anderen Pilzen in auffallender Weise abweichen:

---

1) Die Art P. triticina Eriks., zu welcher P. rubigo-vera p. p. von Eriksson als synonym gestellt wird, wird nur bedingungsweise beibehalten — falls sich nämlich in dem Material auch Teleutosporen finden!

Wie Dangeard (bei E. deformans), beobachtete Verf. zunächst die Verschmelzung zweier Kerne. Der Kopulationskern besteht aus einer schwach sich färbenden Grundsubstanz und einem stark färbbaren massiven Körper, welchen Verf. Chromatinkörper nennt. Der letztere erleidet sodann eine fortschreitende Zerklüftung; Kernmembran, Grundsubstanz und Chromatinfragmente lösen sich auf, fließen in das Cytoplasma über und verlieren sich dort. Schließlich bleibt ein beträchtlich kleinerer Chromatinkörper übrig, welcher sich in zwei Teile teilt; jedes Fragment erleidet wieder Spaltung. Schließlich enthält der Ascus 2 Paare Chromatinkörper (selten 3 Paare.) Bei dieser Spaltung hat Verf. keine karyokinetischen Figuren beobachten können. Die Bildung der Sporen erfolgt ähnlich wie bei anderen Ascomycetes durch Sammlung des Cytoplasmas um die Chromatinkörper. Zum Schlusse diskutiert Verf. die Bedeutung der von ihm beobachteten Chromatinkörper, welche offenbar die Zellkerne ersetzen. Neger (Eisenach).

Buthers, F. K., A preliminary list of Minnesota Xylariaceae. (Minnesota Botanical Studies. Vol. II. edited by Conway MacMillan. p. 563.)

Nummularia 3 Sp., Ustulina 1 Sp., Hypoxylon 12 Sp., Daldinia 2 Sp., Xylaria 1 Sp. Ludwig (Greiz).

Jaczewski, A. v., Ueber eine Pilzkrankheit auf dem Wachholder. (Exosporium juniperinum (Ellis) Jacz.). (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. XI. 1901. p. 203—207.)

Dieser Pilz, welchen Verf. im Gouvernement Smolensk beobachtete, lebt auf den Nadeln der Wachholderbüsche und ruft eine epidemische Krankheit derselben hervor. Die vom Parasiten befallenen Wachholdersträucher sind sofort zu erkennen an den gebogenen Endzweigen und an den leicht abfallenden braungewordenen Nadeln. Die abgefallenen Nadeln werden nicht ersetzt, so daß der Strauch in 2—3 Jahren zu Grunde geht. In den erkrankten Nadeln findet sich in den Intercellularräumen ein verästeltes braunes Mycel, welches auf der oberen Seite der Nadeln schwarze, sammetartige Polster zu beiden Seiten des Mittelnerves hervorruft. Die Polster bestehen aus Bündeln von Conidienträgern, welche keulenförmige, subhyaline, mit Querwänden versehene Conidien tragen. Synonym mit vorliegenden Parasiten erklärt Verf. Coryneum juniperinum Ellis aus Nordamerika und Exosporium deflectens Karsten aus Finnland.

Als Schutzmaßregel gegen die Krankheit empfiehlt Verf. Vertilgung und Verbrennen der erkrankten Wachholderbüsche.

Ferner beobachtete Verf. auf den kranken Nadeln des Wachholders einen anderen Pilz, Hendersonia notha Sacc. et Br., mit schwarzen eingesenkten kugeligen Pycniden.

J. Buchwald (Berlin).

Jaczewski, A. v., Beiträge zur mykologischen Flora Rußlands. I. (Bulletin du Jardin Imp. Botanique de St. Pétersbourg. Livr. I. 1901. p. 14. Mit 2 Textfiguren.) [Russisch mit französ. Résumé.]

Der Verf. hat die Absicht, unter diesem Titel die Beschreibung von neuen Pilzarten Rußlands und hierauf bezügliche Bemerkungen zu veröffentlichen. In diesem ersten Aufsatze werden 2 neue Arten der Fungi imperfecti: Ovularia Oxytropidis sp. nov. und Phoma Botrychii sp. nov. beschrieben, welche von Herrn Sjusew im Gouvernement Perm (Ural) auf Oxytropis pilosa und Botrychium Matricaria gefunden worden sind.

F. Bucholtz (Riga).

Tubeuf, C. v., Ueber eine Krankheit junger Rübsenpflanzen. (Arbeiten aus der biol. Abteilung des K. Gesundheitsamtes. Bd. II. Heft 2. Berlin 1901. p. 350 ff.)

Verf. beschreibt und illustriert eine primär durch eine Nematode erzeugte Krankheit der Keimpflanzen von Brassica rapa und Br. napus, erkennbar zunächst am Auftreten brauner Flecken und Streifen auf den Hypokotylen und den Keimblättern. Die Epidermiszellen waren hier getötet und gebräunt. Vielfach ließen sich kleine Stichwunden in der Außenwand der Zellen entdecken, ohne Zweifel von den saugenden Aelchen hervorgebracht. Später trat Arthrobotrys oligospora an den Keimlingen auf und überwucherte alles. Ihr Mycel drang aber nur in die bereits getöteten Epidermiszellen ein. An dem Pilz wurden neben Conidien- und Gemmenbildung auch die von Zopf beschriebenen und als Anpassungen zum Fang von Nematoden aufgefaßten Mycelschlingen gefunden. Verf., der die Schlingenbildung im Gegensatz zu Zopf auch bei Kultur auf nährstoffreichem Substrat beobachtete, steht dem skeptisch gegenüber und tritt auch der weiteren Folgerung nicht bei, daß der Pilz eine praktische Bedeutung durch die Vernichtung der Nematoden habe. Außer dieser eigenartigen Beschädigung wurde ferner Sclerotinia (wohl sclerotiorum) als Vernichter der Brassica-Keimpflänzchen beobachtet.

Behrens (Augustenberg).

Doherty, M. W., New species of Trimmatostroma. (Botanical Gazette. Vol. XXX. 1900. p. 400.)

Als neuen Coniferenschädling, der Blätter und Aeste von Abies alba und A. balsamea in Ontario gefährdet, beschreibt Verf. Trimmatostroma abietina. — Außer den im Frühjahr auftretenden Conidien konnte Verf. bisher keine Fruktifikationsform des Pilzes beobachten. Küster (Halle a. S.).

Gutzeit, E., Welche Momente befördern die Schädlichkeit des Erbsenwicklers? (Deutsche Landwirtsch. Presse. 28. Jg. 1901. No. 81 u. 82.)

Durch Umfrage und Untersuchung von Proben stellte Verf. fest, daß zur Zeit die Provinz Ostpreußen bis auf seltenes sporadisches Vorkommen an der russischen Grenze thatsächlich frei vom

Erbsenkäfer ist. Dagegen waren die eingesandten Proben zu durchschnittlich 30 Proz. von der Made des Erbsenwicklers angefressen. Da diese aber bekanntlich gleich nach der Reife die Frucht verläßt, um sich für den Winter im Erdboden zu verpuppen, so sind die befallenen Erbsen aus Ostpreußen als käferfrei anzusehen und können, wenn nicht allzusehr beschädigt, als Saatgut verwendet werden; auch sind unter diesen Umständen die von den Landwirten vielfach unternommenen Maßregeln zur Bekämpfung des vermeintlich vorhandenen Erbsenkäfers überflüssig. Da nach den eingelaufenen Berichten zwischen der Häufigkeit des Wicklerbefalles und der Düngung des Bodens, der Bestellzeit, der Anwendung von Gemengesaat und der Erbsensorte Beziehungen bestehen sollten, so unternahm Verf. zur Prüfung dieser Angaben Feldversuche mit folgenden Ergebnissen, bei deren Beurteilung allerdings auf die Witterungsverhältnisse des Jahres 1901 und auf die örtliche Beschaffenheit des Versuchsgutes Waldgarten bei Königsberg Rücksicht zu nehmen ist: 1) Späte Saatzeit dürfte die prozentliche Beschädigung der Erbsen durch den Erbsenwickler bedeutend erhöhen. 2) Stallmistdüngung erhöht die Beschädigung merklich bei allen Sorten und den verschiedenen Arten der Einsaat. 3) Von den angebauten 5 Sorten haben die grünen Erbsen, die ostpreußischen grauen Erbsen und die Peluschken eine relativ niedrige Beschädigung mit ca. 26 Proz., die kleinen und die großen weißen Erbsen eine hohe mit ca. 48 Proz. ergeben. 4) Bei Einsaat von Senf hat sich die höchste, bei Reinsaat eine geringere und bei Gemengesaat mit Hafer die geringste Beschädigung durch den Erbsenwickler ergeben. 5) Unter gleichen Verhältnissen steigt die Beschädigungsziffer mit sinkenden Erträgen. Jacobi (Berlin).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Forti, A., L'impiego dell' aldeide formica per impedire la fluidificazione nei preparati alla gelatina glicerinata. (Bullett. Soc. botan. ital. p. 224—225. Firenze 1901.)

Die Eigenschaft des Formols, alle eiweißhaltigen Stoffe, ohne starke Volumsverringerung, rasch zu erhärten, benutzte Verf. zur Herstellung von Dauerpräparaten, womit er sich mehrere Jahre lang schon beschäftigte.

Die pflanzlichen Zellen erfahren mit Gelatineglycerin nur geringe Kontraktionen und werden infolgedessen ihre Gestalt wenig abändern. Die Fehler, die sich dabei ergaben, lassen sich am vorteilhaftesten durch einen Zusatz von Formol beheben. So namentlich die Verflüssigung des Gelatineglycerins, bezw. dessen Trübung durch pilzliche Organismen, und ebenso die Entfernung von Luftblasen, sowie die Langsamkeit in der Durchdringung des Präparates.

Verf. nimmt eine Gelatinemischung nach Kaiser, erwärmt dieselben auf dem Objektträger und fügt, unter beständiger Warmhaltung des Glases, einen Tropfen von käuflichem Formol, auf

10 Proz. — bezw. bei weniger frischen Präparaten auf 25 Proz. — verdünnt, hinzu; nach raschem Umrühren wird das Präparat eingelegt und mit dem erwärmten Deckgläschen zugedeckt. Sind Luftblasen vorhanden, so hat man durch fortgesetztes gelindes Erwärmen, eventuell unter Gebrauch der Präpariernadel, dieselben vor dem Zudecken zu entfernen. Dadurch erhält man Präparate, welche keines weiteren Verschlusses an den Rändern des Deckgläschens bedürfen.

Nur muß man bei alledem beachten, daß 1) die geschmolzene Gelatinemasse mit dem Formolzusatze nicht erhärte; 2) daß die Erwärmung keine zu hochgradige werde, weil die Masse dann schwerlich fest würde; 3) daß man mit möglichster Raschheit arbeite. Solla (Triest).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Scheffer, W., Beiträge zur Mikrophotographie. (Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XVIII. 1902. Heft 4. p. 401—412.)

v. Wendt, G., Ueber eine einfache Methode, Bakterien ohne Trocknen an Deck- oder Objektgläser zu fixieren. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXI. 1902. No. 13. p. 671—672.)

— —, Eine ausgezeichnete Beleuchtungsquelle für mikroskopische Zwecke. (Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XVIII. 1902. Heft 4. p. 417—418.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Banks, N., New genera and species of acarians. (Canad. entomol. 1902. No. 7. p. 171—176.)

Coutière, H., Sur un nouveau type de Rhizocéphale grégaire parasite des Alpheidae. 2. note. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 19. p. 625—626.)

Eysell, A., Ueber das Vorkommen der Culicidengattung Aëdes Hoffmgg. in Deutschland. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1902. No. 7. p. 217—218.)

Fermi, Cl. u. **Cano, U.**, Untersuchung über den Zusammenhang zwischen den morphologischen und biologischen Eigenschaften der Mikroorganismen. 2. Teil. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXI. 1902. No. 21/22. p. 649—668.)

Grüss, J., Biologische Erscheinungen bei der Kultivierung von Ustilago Maydis. (Ber. d. dtsch. botan. Ges. 1902. Heft 4. p. 212—220.)

Kendall, A. J., A graphical tabulation of the morphological, cultural and biochemical characters of certain bacteria, together with references to authorities, synonyms, literature etc. (Science N. S. Vol. XV. 1902. p. 377.)

Lindroth, J. T., Anmärkningsvårda rost- och brandsvampar från Aland och Tavastland. (Mededeel. Soc. Fauna Flora fennica 1901. Häft 24. p. 106—108.)

Meijer, A., A propos de la fabrication de la levure. (Journ. de la distill. franç. 1902. No. 937. p. 238—239.)

Moeller, A., Ueber säurefeste Bakterien. (Dtsche med. Wochschr. 1902. No. 26, 27. p. 466—468, 483—485.)

Stiles, Ch. W., Eimeriella, new genus of Coccidia. (U. S. Departm. of Agricult. Bur. of anim. ind. Bullet. No. 35. 1902. p. 18—19.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

Salamon, A. G., Einige Mälzungsversuche. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1902. No. 25. p. 379—385.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Stiles, Ch. W. and **Hassall, A.**, Spurious parasitism due to partially digested bananas. (U. S. Departm. of Agricult. Bur. of anim. ind. Bullet. No. 35. 1902. p. 56—57.)

Wurtz, Danger que peut présenter la consommation des légumes et des fruits provenant des champs d'épandage, consommés à l'état cru. Rapport. (Annal. d'hygiène publ. etc. T. XLVIII. 1902. No. 1. p. 35—39.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Boretius, Das Abdeckereiwesen und seine Regelung. (Dtsche Vierteljahrsschr. f. ö. Gesundheitspfl. 1902. Heft 3. p. 475—498.)

Czaplewski, Ueber die Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd in Köln. [Aus: „Deutsche Praxis".] 66 p. gr. 8°. München (Seitz & Schauer) 1902. 2 M.

Dünkelberg, Zur Abwasserreinigungsfrage. Duplik auf die Erwiderung des Herrn Prof. Dunbar-Hamburg in No. 2 dieser Ztschr. (Techn. Gemeindebl. 1902. No. 5. p. 68—72.)

Wiebe, Zur Abwasserreinigungsfrage. Erwiderung auf die Abhandlung des Herrn Prof. Dr. Dünkelberg in No. 24 d. vorig. Jahrg. d. Ztschr. und auf vorstehende Duplik. (Techn. Gemeindebl. 1902. No. 5. p. 72—73.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Esperienze fatte a Nola per combattere la Grillotalpa. (Bollett. uffic. d. Minist. d'agricolt., ind. e commercio. Vol. II. 1902. fasc. 9. p. 1643—1666.)

Forbes, S. A., Additional insecticide experiments for the San Jose scale. (Univers. of Illinois agricult. experiment stat. 1902. May. p. 265—267.)

Kelhofer, W., „La vaudoise", ein neues Peronosporabekämpfungsmittel. (Schweizer. Ztschr. f. Obst- und Weinbau. 1902. No. 12. p. 177—179.)

Lenert, Bericht über die Bekämpfung des Heu- und Sauerwurmes in dem Versuchsfeld „Gerech" bei Edenkoben im Jahre 1902. (Weinbau und Weinhandel. 1902. No. 24. p. 254.)

Lüstner, G. und **Seufferheld, C.**, Die Bekämpfung des Traubenwicklers (Heu- und Sauerwurm) nach dem neuesten Stande. (Mitt. üb. Weinbau u. Kellerwirtsch. 1902. No. 6. p. 3—22.)

Percival, J., Notes and observations on plant-diseases. (Journ. of the South-east. agricult. coll., Wye. 1902. No. 11. p. 81—89.)

Schäff, E., Die Feldmaus und ihre Vertilgung. (Thüring. landwirtschaftl. Ztg. 1902. No. 23, 24. p. 180—181, 187—188.)

Selby, A. D., The future of vegetable pathology. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 736—740.)

Simpson, J., The disease of Larch (Larix). (Gard. chron. Vol. XXXI. London 1902. p. 238—239, 256—257.)

Smith, E. F., Plant pathology: a retrospect and prospect. (Science 1902. N. S. Vol. XV. p. 601—612.)

Stift, A., Die Bekämpfung der Blattläuse auf Zuckerrüben. (Wien. landwirtschaftl. Ztg. 1902. No. 49. p. 424.)

Weiss, Die Behandlung der Obstbäume im Winter zum Schutze gegen tierische Schädlinge und parasitäre Pilze. (Natur und Glaube. 1902. p. 375—376.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Poore, G. V., The earth in relation to the preservation and destruction of contagia. Being the Milroy Lectures delivered at the Royal College of Physicians in 1899, together with other Papers on Sanitation. 8°. 268 p. London (Longmans) 1902. 5 sh.

Stiles, Ch. W., The disinfection of kennels, pens and yards by fire. (U. S. Departm. of Agricult. Bur. of anim. ind. Bullet. No. 35. 1902. p. 15—17.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 14. Oktober 1902. **No. 13.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.

Hierzu als regelmäſsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Die Fortpflanzung der Hefezelle. I.

[Aus dem Kgl. hygienischen Institut in Posen. Direktor: Herr Medizinalrat Prof. Dr. Wernicke.]

Von Dr. **Albert Hirschbruch.**

Mit 1 Tafel.

Der Umstand, daß die Hefen in der großen Zahl gärungstechnischer Betriebe eine große praktische Bedeutung haben, hat schon zu sehr früher Zeit das Interesse der Praktiker dem Hefestudium zugewendet.

Die Hefewirkung ist seit sehr langer Zeit ein außerordentlicher Kulturfaktor, der ursprünglich zwar unbewußt, aber trotzdem nicht ungewollt angewendet und verwertet wurde. Der Gärungstechniker aus der ersten geschichtlichen Zeit — wenn wir den bierbrauenden Aegypter, den weinbereitenden Griechen, die den Honig zur Metherzeugung anstellende Germanin so titulieren dürfen — war vom Zufall abhängig. Erst die mikroskopische und chemische Entwickelung der Naturerkenntnis hat Licht in die dunklen Vorgänge bei der Gärung gebracht.

Bei der Erforschung dieses Gebietes ist man den umgekehrten Weg gegangen, wie er wohl sonst in der Bakteriologie üblich ist. Die Stoffwechselprodukte der Hefezelle und die Beeinflussung der zu vergärenden Nährsubstrate durch dieselben sind wegen der industriellen Wichtigkeit dieser Frage außerordentlich genau studiert worden und heute bereits bis in sehr feine Details hinein bekannt. Hansen, Pasteur, Lindner, Joergensen u. A. haben sich ganz besondere Verdienste durch die Erweiterung unseres gärungsphysiologischen Wissens erworben.

Mit dieser Erforschung wertvoller physiologischer Eigenschaften hat unsere Erkenntnis über den morphologischen Bau der Hefezelle nicht gleichen Schritt gehalten. Die Gründe hierfür sind ebenso mannigfach wie offensichtlich. Ganz abgesehen davon, daß man bis jetzt aus der Kenntnis feinerer Strukturverhältnisse der Hefezelle noch keine praktischen Vorteile herauszuwirtschaften versteht, ist die Erforschung mikroskopischer Finessen auch schwieriger als die Prüfung der chemisch-vitalen Aktionen und Reaktionen. Hefenpreßsaft und noch mehr die Abbauprodukte der Hefe in den verschiedenen Nährmedien lassen sich auf einfachste Weise in unbegrenzter Menge gewinnen und der chemischen Untersuchung nach ganz genau bekannten und bereits hoch entwickelten Methoden zugänglich machen.

Im Gegensatz hierzu sind wir bei dem anatomischen Studium auf die Betrachtung der einzelnen räumlich eng begrenzten Zelle angewiesen und hierbei abhängig von dem Stande der optischen Technik im allgemeinen und von der Güte unseres Mikroskops im besonderen. Wir sind aber in gleich erheblichem Grade abhängig von unserer Fähigkeit, verschiedenartige Dinge innerhalb der Zelle, denen Unterschiede in der Lichtbrechung abgehen, durch differente Färbung sichtbar zu machen.

Der Wert mikrochemischer Reaktionen beim Studium der durch Fixieren getöteten Hefezelle ist aber auch bestritten, und jede derart bewirkte differenzierte Färbung mehr oder weniger für ein Kunstprodukt erklärt worden.

Dem Mediziner und besonders dem Bakteriologen erscheint diese Zumutung, sich der Vorteile tinktorieller Unterscheidungsmerkmale einer ganz ungerechtfertigten Hypothese zu Liebe zu begeben, heutzutage unglaublich. Die Gleichmäßigkeit bestimmter Färbungen bei allen Zellen derselben Art und die fast verblüffende Gesetzmäßigkeit in der Formenreihe tinktoriell gleichwertiger Zellbestandteile geben uns nicht nur die innere Berechtigung zur Ein-

stellung gefärbter Zellen für die Beurteilung überhaupt, sondern berechtigen uns auch, aus dieser Gleichheit der Färbung auf die Gleichheit wenigstens einiger anatomischer und physiologischer Eigenschaften zu schließen. Ebenso unbestreitbar ist sicherlich, daß verschieden gefärbte Zellanteile auch morphologisch verschieden sind; gleichgefärbte können mindestens gleichwertig sein. Wir wollen deshalb auch gleichgefärbte Dinge innerhalb derselben Zelle so lange als anatomisch gleich ansehen, bis ein wichtiger Grund gegen unsere Annahme geltend gemacht werden kann.

Auf diesen Voraussetzungen bauend, habe ich die Zelle aus der käuflichen Preßhefe zum Gegenstand meiner Untersuchung gewählt. Zunächst habe ich mir durch wiederholtes Plattengießen mit Traubenzucker-Agar einen absolut reinen Hefenstamm herangezüchtet und dann festgestellt, daß Saccharomyces ellipsoideus Hansen I vorlag. Von dieser reinen Hefe habe ich auf verschiedenen Nährmedien und unter mannigfachen Bedingungen Kulturen zur Benutzung bei meinen mikroskopischen Untersuchungen angelegt. Hierbei habe ich mich ausschließlich der festen Nährböden bedient; insbesondere habe ich mit 1-proz. Glukoseagar, gewöhnlicher Bouillongelatine und 10-proz. Glukosegelatine gearbeitet. Die letztere habe ich bei saurer und schwach alkalischer Reaktion benutzt. Ich habe wiederholt auch Agarkulturen bei Zimmertemperatur und Gelatineplatten im Brutschrank gehalten.

Schon an der Verschiedenheit der Zellform war in Uebereinstimmung mit den Arbeitsergebnissen von Hansen und Jörgensen die Chamäleonnatur der Hefe zu erkennen. Dabei habe ich mich selbstverständlich durch häufiges Umimpfen von einem Nährboden auf den anderen immer wieder davon überzeugt, daß ich es noch mit der nämlichen Hefenrasse zu thun hatte.

In großen Zügen habe ich dabei folgende Thatsachen feststellen können:

1) Raschestes Wachstum der Hefe erfolgt auf Zuckeragar im Brutschrank.

2) Saure Traubenzuckergelatine ist ein geeigneterer Nährboden für die untersuchte Hefe als sorgfältig neutralisierte oder gar schwach alkalische Gelatine.

3) Junge Hefekulturen, auf Glukoseagar im Brutschrank gezogen, enthalten fast ausschließlich wurstförmige Zellen, sogenannte Pastorianus-Formen.

4) Die Schnelligkeit des Wachstums ist bei der untersuchten Hefe in gleicher Weise abhängig von der Art des Nährbodens und von der Temperatur.

5) Die Zellform ist abhängig von dem Nährboden; die Temperatur scheint auf die Gestalt der einzelnen Hefezellen geringen Einfluß zu haben.

Ich habe der Betrachtung der inneren Strukturverhältnisse in der Hefezelle, soweit sie mit der Fortpflanzung in Verbindung stehen, besondere Aufmerksamkeit geschenkt. In der vorliegenden Arbeit beschränke ich mich auf die Darstellung dessen, was in der Zelle

bei dem speziellen Falle der Fortpflanzung durch Sprossung vor sich geht.

Es handelte sich für mich darum, eine Färbung für meine Untersuchungen ausfindig zu machen, die leicht und in kurzer Zeit ausführbar ist, und die es ermöglicht, ganz bestimmte Teile im Zellinneren immer wieder in genau derselben Weise scharf begrenzt und leicht erkennbar zu färben.

Es ist auch verschiedenen Seiten eine ganze Anzahl von Färbemethoden für die Hefezelle angegeben worden, die zum Teil Farbstoffe aufführen, welche nicht in jedem Laboratorium vorrätig sind, zum größeren Teil aber eine recht umständliche und zeitraubende Technik erheischen.

Die Färbung nach Gram erfaßt die Hefezelle in ihrer Totalität. Moeller[1]) will durch Gram-Färbung die Kerne differenzirt gefärbt erhalten haben; mir ist diese spezielle Kerntinktion bis jetzt nicht gelungen.

Aehnlich ergeht es der Hefe mit Methylenblau und Fuchsin. Versucht man durch verschiedene sonst übliche Differenzierungsmethoden einzelne Dinge aus dem Ganzen besonders herauszuheben, so findet man, daß bei der Anwendung von 3-proz. Salzsäurealkohol, wie wir ihn bei der Doppelfärbung auf Tuberkelbacillen mittels Ziehl'scher Lösung benutzen, Methylenblau zur ersten Färbung ungeeignet ist, weil es vollständig ausgewaschen wird. Fuchsinfärbung der Hefe wird im Gegensatz hierzu durch Salzsänrealkohol so gut wie gar nicht angegriffen. Wir müssen deshalb an chemisch stärker wirkende Mittel denken. Ich benutzte der Reihe nach Schwefelsäurewassergemische verschiedener Konzentration und fand die abgekühlte 2-proz. Mischung am besten geeignet. In der Litteratur finde ich nachträglich die Mitteilung von Moeller, daß Fuchsinfärbung und Behandlung mit 4-proz. Schwefelsäuremischung die „Sporen“ different sichtbar macht. Ich habe diese Angabe bestätigt gefunden. Für die Hervorhebung der zum Teil sehr feinen Dinge im Zellinnern eignet sich aber die Moeller'sche Schwefelsäure nicht so gut. Sie macht die zarten gefärbten Fäden schrumpfen und dunkelt auch das Fuchsin etwas. Das schöne leuchtende Rot geht dabei verloren.

Ich wendete also folgendes Verfahren an: 10 ccm einer gesättigten alkalischen Fuchsinlösung, die mit destilliertem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt ist, und ein 2-proz. wässeriges Schwefelsäuregemisch halte ich mir vorrätig.

Auf einem Deckgläschen verreibe ich eine Spur von meiner Hefekultur mit einem Tröpfchen Wasser, lasse lufttrocken werden, fixiere durch Erhitzen und schichte von meiner Fuchsinlösung darauf. Ich lasse die Farbe drei Minuten einwirken. Das Fuchsin wird abgeschwenkt und das Präparat gut in Wasser abgespült. Nun kommt der Hauptteil. Das gefärbte Präparat wird mit der

---

1) Moeller, Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XII. p. 537.)

Schwefelsäuremischung überspült, rasch abgeschwenkt und sofort mit Wasser abgespült.

Jetzt kann man noch die entfärbten Zellanteile durch 15 Sekunden lange Einwirkung von wäßriger Methylenblaulösung nachfärben und dann das getrocknete und in Kanadabalsam eingeschlossene Präparat mit Oelimmersion ansehen.

Im allgemeinen empfiehlt es sich, die Nachfärbung fortzulassen. Dieselbe ist nur zu wenigen bestimmten Zwecken von Wert und wird dann am besten mit stark verdünnter Methylenblaulösung ausgeführt.

Die Zellen, welche unter No. 1—13 abgebildet sind, rühren aus derartig behandelten Präparaten her. Sie stammen von Kulturen, die auf saurer und neutraler Zuckergelatine bei Zimmertemperatur gewachsen sind.

Bei vergleichender Betrachtuug aller 13 Nummern fällt sofort auf, daß es sich hier um Sproßbildung handelt und daß die rotgefärbten Dinge in den Zellen in sehr wesentlicher Beziehung zur Zellvermehrung stehen.

Selbstverständlich findet man in jedem Präparate fast alle dargestellten Formen neben und durcheinander. Die Reihenfolge auf der Tafel soll aus dem Nebeneinander der Befunde zu einem Nacheinander der Betrachtung Veranlassung geben, so wie ich mir auf Grund von Hunderten von Präparaten den Vorgang der Sprossung vorstelle.

Ich verhehle mir durchaus nicht die Schwierigkeit, die ungeheure Menge von Formen und Erscheinungen einigermaßen in ein System zu bringen, und bin mir bewußt, daß die folgenden Ausführungen noch viel Hypothetisches an sich tragen. Es ist selbstverständlich, daß zwischen den beschriebenen Bildern sich eine Unzahl von Uebergangsformen vorfinden.

Alle Formen konnte ich unmöglich bringen; ich bemerke aber, daß die auf der Tafel dargestellten Abbildungen vollkommen objektiv sind. Es kann sich dem zu Folge hier nur mehr oder weniger um einen Versuch handeln, die vorhandenen Erscheinungen zu deuten.

Die erste Zelle präsentiert sich uns als ein eiförmiger Körper ohne besonders erkennbare Zellmembran. Der Zellinhalt ist gleichmäßig hellblau tingiert. In der Zelle liegt an einer ihrer Breitseiten, näher der Basis, eine große helle ungefärbte oder doch höchstens blaß-bläulich erscheinende Stelle. Wandständig liegt auf diesem hellen Scheibchen, dort wo dasselbe dem Zellrande nahe ist, ein großer roter Fleck. Was sich uns als Fläche darstellt, ist für unseren speziellen Fall (Scheibchen wie Fleck) als körperliches Gebilde daraus mit Sicherheit zu erkennen, daß man dieselben niemals auf die Kante gestellt, d. h. strich- oder bandförmig zu Gesichte bekommt. Wenn man bedenkt, daß der rote Fleck sich teilt und auch die Sprossenbildung einleitet, wenn man ferner bedenkt, daß seine Fuchsinfärbung eine erhebliche Säurefestigkeit besitzt, und daß er — wie wir noch sehen werden — sich mitunter durch Methylenblau metachromatisch färben läßt, so wird man ihn,

ohne den Erscheinungen Zwang anzuthun, als Kern agnostizieren dürfen.

Von welcher Beschaffenheit ist nun aber der helle Hof?

Erst im Jahre 1879 hat Schmitz[1]) zuerst den Kern bei den Blastomyceten nachgewiesen.

Moeller[2]) sah selbst bei sehr starker Vergrößerung des tingierten Materials weder einen Nucleolus noch eine Kernmembran. Infolge dessen leugnet er auch das Vorhandensein einer Kernstruktur.

Janssens[3]) hat in jungen Formen von S. Ludwigii, das ist die Eichenhefe, eine Kernmembran und ein Körperchen gefunden. Das Körperchen befindet sich ungefähr in der Mitte des Kerns und nimmt den dritten Teil seines Durchmessers ein. Derselbe Beobachter hat später in Gemeinschaft mit Leblanc[4]) in gefärbten Zellen ein dunkles Kügelchen mit farbloser oder schwach tingierter Alveole beschrieben die von einer schwachen Membran umspannt ist. Sie halten dieses Gebilde, das früher für eine Vakuole gehalten wurde, für den Zellkern und das stark gefärbte Körperchen in ihm für den Nucleolus.

Diese Auffassung ist ganz bestimmt unrichtig, denn nicht der helle Hof vergrößert sich, sondern der rote Körper, und dieser geht in Teilung und beherrscht das Bild der Sprossung, nicht jener vermeintliche „ungefärbte Kern". Da dieser rote Körper den Kernpunkt der Zellvermehrung bildet, müssen wir in ihm auch notwendiger Weise den Kern der Hefezelle erblicken. Im Vergleich zu ihm ist der Kernhof von ganz untergeordneter Bedeutung. Er stellt nur einen Raum dar, in dem der Kern ruht und in dem er sich als Vorbereitung seiner Teilung vergrößert und wichtige Entwickelungsstadien durchläuft (Fig. 2—5).

Aus dem Grunde, weil die Teilung nicht stattfindet, so lange die Grenze dieses Hofes nicht erreicht ist, der Kern über diese Grenze hinaus aber nicht in das Zellplasma hineinwächst, muß man zu dem Schlusse kommen, daß der Inhalt des Hofes leichter nach innen oder außen verdrängt werden kann als das Protoplasma. Eine recht interessante Beobachtung von Eisenschitz[5]) verdient hier Erwähnung, weil sie uns zu demselben Schlusse drängt. E. sah wie viele andere Autoren sowohl im Plasma wie im Kernhof Granula, auf deren Natur ich hier nicht näher eingehen will. Er beobachtete nun, daß diese Granula zwischen Kernhof und Plasma herüber und hinüber wanderten und sich in der „Vakuole" viel lebhafter bewegten als im Plasma. Es ist hiernach sehr begreiflich, wenn E. an dem Begriffe der „Vakuole" festhält. Abgesehen

1) Sitzungsber. der Niederrhein. Ges. etc. Bonn. August 1879.

2) l. c.

3) Beiträge zur Frage über den Kern der Hefezelle. (Centralblatt f. Bakter. Bd. XIII. p. 639.

4) Recherches cytologiques sur la cellule de la levure. (La Cellule. T. XIV. Fasc. 1. p. 203—243. Av. 2 pl. [Referat Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt. Bd. IV. p. 930]).

5) Ueber die Granulierung der Hefezellen. (Centralbl. f. Bakt. etc. II. Abt Bd. I. p. 674.)

davon aber, daß von einem Vakuum innerhalb einer Zelle überhaupt nicht die Rede sein kann und daß der Ausdruck recht unglücklich ist, bestehen doch in Rücksicht auf das, was man nun einmal in der Zelle „Vakuole“ zu nennen pflegt, Bedenken, einen Raum so zu nennen, der von einer Flüssigkeit erfüllt ist, die zwar größere Verschieblichkeit als das Protoplasma besitzt, die aber den wichtigsten Teil der Zelle, ihren Kern, in sich birgt und außerdem noch mehr oder weniger zahlreiche feste Partikelchen (Mikrosomen, Granula). Wir wollen deshalb den so beschaffenen Raum Kernhof nennen.

Die Frage nach der Kernmembran zerfällt damit in zwei neue, nämlich in die Frage, ob der eigentliche Kern und ob der Kernhof eine Membran besitzen. Wie einige Untersucher darüber denken, habe ich schon erwähnt. Ich habe weder die eine noch die andere je gesehen und mit Rücksicht auf Fig. 6 und 20—24, sowie wegen der Eisenschitz'schen Beobachtung kann ich auch nicht an deren Vorhandensein glauben.

Während der Kern nun räumlich bis zu seinem Maximum in der zweiten Zelle heranwächst, sehen wir in Fig. 3 außerhalb des Kernes am Pole der Zelle, jedoch ein wenig seitlich gelegen, in dem hellblauen Zellleib ein dunkelblaues massives Körperchen auftauchen. Die Stelle, wo dieses Corpusculum in die Erscheinung tritt, ist just dieselbe, an der unser Saccharomyces ellipsoideus gewöhnlich durch Sprossung seine Tochterzelle produziert.

Dieses topische Verhältnis leitet uns schon zu der Vermutung hin, daß es sich hier um ein zur Fortpflanzung in irgend einer Beziehung stehendes geformtes Element handelt. Diese Vermutung erhält eine Stütze durch die grobfädige Knäuelbildung in Fig. 4, wo zwischen dem roten Fadenwerk ein dunkelblaues — anscheinend ebenfalls aus Fäden bestehendes — Gebilde auftaucht. Die Vermischung der beiden Knäuel wird immer inniger, so daß schließlich ein scheinbar einheitlicher Kern (Fig. 5) resultiert, der nur durch seine leicht ins Violette spielende rote Färbung darthut, daß es sich wie um eine Mischfarbe, so auch um eine Mischung verschieden färbbarer Elemente handelt. Nach dieser feinsten Vermischung seiner beiden Grundsubstanzen beginnt die Teilung des verändert zusammengesetzten Kernes. Dem Blaupolkörper darf demnach wohl auch eine formierende Kraft zugeschrieben werden. Die sicher vorhandene Aufnahme eines blauen Körpers durch den säurefesten roten Kern, wobei der Blaupolkörper der aufsuchende und der Körper der empfangende Teil ist, ferner die innige Vereinigung beider und die nachfolgende Teilung des Kernes sind entscheidende Momente für die Annahme zweier verschiedener Prinzipien. Der Zweck ihrer Vereinigung ist die Fortpflanzung. Darum fordern diese Vorgänge direkt zum Vergleich mit geschlechtlicher Verbindung heraus.

Der Ursprung des hiernach als „weiblich“ zu bezeichnenden größeren roten Kernes in der Hefezelle ist, wie wir später sehen werden, kein Geheimnis (Fig. 9—12).

Anders geht es uns aber mit dem Polkörper. Er könnte im

Zellleib selbst entstehen und bis zur Konjugationsreife heranwachsen. Dafür spricht der Umstand, daß ich viel häufiger an der gehörigen Stelle einen viel kleineren Körper gesehen habe, mitunter auch zwei solche, an den diametralen Prädilektionsorten der Zelle je einen. Daraus geht hervor, daß mindestens zwei solcher gleichwertiger Punkte in jeder Zelle des Saccharomyces ellipsoideus vorhanden sein können; höchst wahrscheinlich sind ihrer aber auch nicht mehr. Der Einfachheit halber wollen wir jeden von ihnen Punctum vegetationis nennen. Es könnte aber auch ein Austausch der Polkörperchen von Zelle zu Zelle stattfinden. Diese Annahme wäre möglich, würde aber das Vorhandensein eines Porus sexualis wahrscheinlich machen. Ich habe nie etwas derart gesehen. Das spricht allerdings noch nicht gegen seine Existenz und ich will die Möglichkeit nicht bestreiten. So macht Janssens[1]) die Angabe, daß nach erfolgter Sprossung die Zellwand an der Trennungsstelle in ihrer Struktur verändert ist und nennt diese Stelle sterigmatische Fläche. Mir will es scheinen, als habe J. das am Vegetationspunkt liegende und natürlich flächenhaft gesehene Polkörperchen als die von ihm sogenannte sterigmatische Fläche angesprochen. Was ich nun aber entschieden in Abrede stelle, ist eine etwaige Differenz der Zellen nach Geschlechtern. In jeder Zelle ist das weibliche Element vorhanden und nur in ganz alten Kulturen mit erschöpftem Nährboden (vielleicht auch durch Einwirkung der aufgespeicherten giftig wirkenden Stoffwechselprodukte) findet man Zellen, die sich des Kernes entledigt haben und zwar in einer Form, über die in meiner nächsten Arbeit die Rede sein wird. Diese Zellen sehen dann wie Schemen aus und etwa gerade diese Zellen als Produzenten des männlichen Keimes zu reklamieren, würde absurd sein. Alles in allem glaube ich, daß jedes Einzelindividuum des Saccharomyces ellipsoideus beiderlei Geschlecht in sich vereint, und daß die Befruchtung innerhalb des Organismus durch Vereinigung der Geschlechtselemente ein und derselben Zelle vor sich geht. Es würde sich also nicht nur um einen Bisexualismus jeder Zelle, sondern auch um eine hermaphroditische Selbstbefruchtung handeln.

So ist es auf Grund der Befunde am wahrscheinlichsten. Ob der Vorgang wirklich dieser Kombination entspricht — das weiß ich nicht.

Ich betone aber nochmals gegenüber dem zweifelhaften Ursprung des männlichen Polkörpers, daß das Vorhandensein zweier Geschlechtskeime und ihre Vereinigung zu einem konjugierten Körper, der dann in Teilung geht, meiner Ansicht nach als sicher anzusehen ist[2]).

Dieser befruchtete Kern teilt sich dann, wie Fig. 6 veranschaulicht, in 2 Kerne, die zunächst noch durch eine Brücke verbunden sind. Die beiden im Entstehen begriffenen neuen Kerne mitsamt dem sie verbindenden Stege haben gegenüber Fuchsin-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIII. p. 639.

2) Es muß hier erwähnt werden, daß Janssens und Leblanc in der citierten Arbeit, allerdings auf Grund ganz andersartiger Vorgänge, dazu gekommen sind, eine Befruchtung bei der Sporenbildung anzunehmen.

färbung ihre Säurefestigkeit behalten. Die Richtung der Brücke ist stets so wie ich sie abgebildet habe im Verhältnis zu den neuen Kernen. Sie geht also wie eine gemeinschaftliche äußere Tangente von einer Kernhälfte zur anderen; nie bildet sie — die Diagonale von Globus zu Globus ziehend — eine gemeinsame innere Tangente; nie verbindet sie die nächstgelegenen Punkte beider Kugeln miteinander. Ein Umstand kommt uns zu statten, daß uns die letztgenannte Verbindungsart auch nicht erst vorgetäuscht wird. Würde die gemeinsame äußere Tangente im Präparat an der vorderen oder hinteren Fläche der Kugeln liegen, so könnte eine solche Linie bei Betrachtung von oben her nicht von der kürzesten Verbindungslinie beider neuentstehenden Kerne unterschieden werden. Nur die unmögliche seitliche Betrachtung des mikroskopischen Präparates könnte uns dann noch über die wahre Lage Aufschluß geben. Der eigentümliche hantelförmige Kernapparat kann aber auch gar nicht derart in der Zelle liegen. Er ist bestrebt, die Gleichgewichtslage einzunehmen, und das ist nur dann der Fall, wenn die Fläche, in der der ganze Kern liegt, der Fläche der Unterlage (also des Objektträgers) annähernd parallel ist. Diese Einstellung des Kernes kann entweder durch Rotation um seine Längsachse innerhalb des Protoplasmas oder durch Umrollen der ganzen Zelle zustande kommen.

Der hantelförmige Kern bildet hier noch eine einzige Figur, welche die Grenzen des Kernhofes bereits weit überschritten hat. Größe und Form dieses Doppelkernes weichen so erheblich von denen des ursprünglichen wie des Hofes ab, daß der Gedanke einer Kernmembran sehr unwahrscheinlich wird.

(Schluß folgt.)

Bakteriologische Untersuchungen über Mehlteiggärung.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich.]

Von **Wilh. Holliger,** Seminarlehrer in Wettingen (Aargau, Schweiz).

(Fortsetzung.)

Die dabei gemachten Beobachtungen berechtigen dazu, unser Sauerteigstäbchen in die Gruppe der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien zu stellen, als deren typische Vertreter die Milchsäurebakterien der Brennereimaischen zu gelten haben.

Es handelt sich also um einen Milchsäurebildner, der sich während der alkoholischen Gärung des Teiges entwickelt und diese begleitet. Dieses Verhältnis ist wohl nicht auf einen bloßen Zufall zurückzuführen. Wenn man die Thätigkeit der Milchsäurebakterien der zweiten Gruppe verfolgt, so wird man sie fast durchweg unter Umständen besonders entfaltet finden, wo alkoholische Gärung durch Hefe erfolgt. Die Sauerteiggärung stellt nur einen

speziellen Fall dieser allgemeinen Erscheinung dar. Unter diesem Gesichtspunkte mußte die Frage nahe liegen, ob auch bei der Gärung des Teiges mit Hilfe von Preßhefe die Zerlegung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure begleitet werde von einer Entwickelung von Milchsäurebakterien und damit verbundener Säurebildung oder ob vielleicht der Unterschied zwischen Sauerteig und Preßhefeteig darin bestehe, daß der erstere eine Milchsäuregärung erleidet, der letztere hingegen nicht.

6. Die Milchsäurebakterien des Preßhefeteiges.

Bevor die Untersuchung gärender Preßhefeteige auf Milchsäurebakterien in Angriff genommen wurde, sollten einige Vorversuche über die Säurebildung solcher Teige darüber Aufschluß geben, inwieweit nach dieser Richtung hin ein Erfolg erwartet werden durfte.

Bei seinen Untersuchungen über die Säuremengen verschiedener Brote fand Lehmann [1]), daß alle mit Hefe bereiteten Brote einen niedrigen oder sehr niedrigen Säuregehalt besitzen, während alle mit Sauerteig hergestellten Brote sauer sind. Unsere schweizerischen Brotsorten enthalten allerdings, wie auch Lehmann feststellte, sehr wenig Säure, gleichgiltig ob als Gärmittel Sauerteig oder Hefe verwendet wird. Es kommt eben sehr viel auf die Behandlungsweise, speziell auf die Art und Häufigkeit der Vermehrung, die dabei herrschende Temperatur und das Alter der zum Backen verwendeten Teigmasse an. Lehmann hat darauf hingewiesen, daß man je nach Anordnung dieser Verhältnisse es in der Hand hat, mit Sauerteig ein säurereiches oder säurearmes Brot zu erhalten.

Folgender von uns angestellter Versuch zeigt, daß man auch mit Preßhefe einen sauren Teig erhalten kann: Von einer Mehlprobe stellten wir 3 Teige von je 60 g Mehl her, nämlich

a) Mehl mit Wasser,
b) Mehl mit Aufschwemmung von Sauerteig,
c) „ „ „ „ Preßhefe.

Alle 3 Teige wurden unter den gleichen Bedingungen im warmen Zimmer auf dem 30° Wärmeschrank aufbewahrt und erst nach 20 Tagen titriert. Von jedem Teig wurden zu diesem Zweck 30 g mit 50 ccm destilliertem Wasser so gut als möglich zerrieben. Indikator Phenolphtaleïn. Es wurden verbraucht für

Spontane Gärung 22,4 ccm $^1/_4$ n-Lauge
Sauerteig- „ 14,4 „ $^1/_4$ „
Preßhefe- „ 12,8 „ $^1/_4$ „

Umgerechnet auf 100 g Teig und Normallauge ergiebt sich:

$$\text{Spontane Gärung } \frac{22{,}4 \times 100}{4 \times 30} = 18{,}7 \text{ ccm n-Lauge}$$

$$\text{Sauerteig- „ } \frac{14{,}4 \times 100}{4 \times 30} = 12 \text{ „ „}$$

$$\text{Preßhefe- „ } \frac{12{,}8 \times 100}{4 \times 30} = 10{,}7 \text{ „ „}$$

1) Lehmann, Qualitative und quantitative Untersuchungen über den Säuregehalt des Brotes. (Archiv f. Hygiene. Bd. XIX.)

Danach war der Säuregehalt im Preßhefeteig annähernd derselbe wie in dem Teig, der durch Sauerteig gelockert worden war. Eine mikroskopische Untersuchung ergab ein Resultat, das mit diesem Befund nicht in Widerspruch war. Beide Teige sahen im hängenden Tropfen ungefähr gleich aus. Immer war eine große Zahl von unbeweglichen Bakterien neben relativ wenigen Hefezellen zu sehen, nur herrschten im Preßhefeteig kurze und dicke Stäbchen vor, während der andere Teig reicher an schlanken Formen war. Die starke Säuremenge des Preßhefeteiges verdankte ihren Ursprung voraussichtlicherweise ebenfalls Bakterien.

Diese Bakterien verhalten sich analog denjenigen des Sauerteiges, sie vermehren sich im Mehlteig rasch, was durch folgenden Versuch gefunden wurde: Zur Vergleichung wurden wieder Teige hergestellt aus derselben Mehlprobe.

A. 60 g Mehl + 35 ccm Leitungswasser,

B. 60 g Mehl + 35 ccm einer Aufschwemmung von 2—3 g eines 1 Tag alten Preßhefeteiges, der aus einer Bäckerei bezogen war.

C. 60 g Mehl + 35 ccm einer Aufschwemmung von 2—3 g eines 2 Tage alten Sauerteiges.

Direkt nach der Herstellung wurde je ein Ausstrichpräparat gefärbt und im Mikroskop folgender Befund erhalten:

A. In mehreren Sehfeldern war nichts zu sehen als Stärke und Kleber.

B. In mehreren Sehfeldern keine Bakterien, nur eine Hefezelle.

C. Mitunter in einem Sehfeld ein einzelnes oder Doppelstäbchen.

Ihren Platz fanden die Teige wieder auf dem 30° Wärmeschrank. Ueber Nacht gingen B und C auf, die Preßhefeteigprobe etwas stärker als der Sauerteigvorteig. Beide Teige wurden während mehrerer Tage miteinander verglichen. Während der ganzen Zeit waren sie im Geruch nicht stark verschieden. Derselbe war auch im Alter von 10 Tagen bei keiner dieser 2 Proben ein ausgesprochen saurer zu nennen. Personen, die nach dem Geruche gefragt wurden und die nicht wußten, um was es sich handelte, erklärten gewöhnlich den Preßhefeteig als eher etwas säuerlich riechend. Mikroskopisch beobachteten wir beim Sauerteig das gewohnte Bild, auffallend viele längliche Stäbchen. In den älteren Proben war dasselbe insofern etwas verändert, als zu kurzen Kettchen vereinigte Stäbchen häufiger wurden. Im Preßhefeteig waren auch schon nach 12 Stunden Stäbchen ziemlich häufig zu sehen, doch weniger zahlreich als im Sauerteig. Vielfach waren die Stäbchen kürzer und dicker, und solche, die mit den im Sauerteig gesehenen identisch sein konnten, schienen nur vereinzelt zu sein. Mit dem Alter nahm die Zahl der Stäbchen zu. Auffallend war, daß in beiden Teigen die Spaltpilzzellen die Hefezellen an Zahl weit übertrafen.

Ganz anders verhielt sich Teig A. Unter gleichen Bedingungen machte derselbe nach 12 Std. nicht die geringste Miene, zu gären. Er kam nun in den 30° Schrank, wo sich allerdings bald Gas bildete. Mit dem Eintreten dieser Erscheinung machte sich auch

ein unangenehmer, etwas stechender Geruch bemerkbar. Im Hängetropfen wurden die früher erwähnten beweglichen Buttersäurestäbchen sichtbar und daneben auch kürzere bewegliche Stäbchen, die allem Anschein nach Bact. levans angehörten.

Diese Versuche sprachen dafür, daß ähnlich wie im Sauerteig auch im Preßhefeteig während der Gärung eine starke Vermehrung gewisser, im Anfang nur in geringer Zahl vorhandener Bakterien stattfindet.

Nach dem mikroskopischen Bilde schien es, als ob die Bakterienflora des Preßhefeteiges eine andere wäre als die des Sauerteiges. Da jedoch die Sauerteigstäbchen in ihren Dimensionen großen Variationen unterworfen sind, so war immerhin noch die Frage offen, ob die im Preßhefeteig beobachteten kurzen und plumpen Stäbchen etwa als morphologisch beeinflußte Sauerteigstäbchen aufzufassen seien. Um hierüber Klarheit zu schaffen, war es notwendig, die Spaltpilzflora des Preßhefeteiges noch näher zu verfolgen. Verschiedene Weißbrotteigproben aus eben so vielen Bäckereien von Zürich und Baden, wo regelmäßig Preßhefe zur Verwendung kommt, wurden ähnlich untersucht wie seiner Zeit die Sauerteigproben. Zur Isolierung der Bakterien wurde Traubenzuckeragar in hoher Schicht geimpft und die Kulturen in den 30° Schrank gestellt. Das Versuchsprotokoll enthält hierüber folgende Angaben:

Preßhefeteig I. Direkte Untersuchung im h. Tr.: Vereinzelte Stäbchen $^3/_4$—1 μ dick und 3—4 μ lang. Im gefärbten Präparat wurden neben diesen auch kürzere Formen sichtbar. Gegenüber dem Sauerteig fiel die relative Armut an Bakterien auf, indem ungefähr gleichviel Hefezellen wie Bakterien vorhanden waren. Kulturen in hoher Schicht in Traubenzuckeragar bei 30°: Nach 24 Stunden war das a-Röhrchen durch Gas stark zerklüftet. In der dem Gummistopfen zunächst liegenden Flüssigkeit schwammen zahlreiche coliähnliche Kurzstäbchen, von denen die meisten beweglich waren. Hier dürfte es sich um levans gehandelt haben. Nach 2 Tagen hatten b und c noch kein Gas und sahen gleich aus wie entsprechende Kulturen aus Sauerteig. Größere Kolonieen bestanden aus typischen lactis acidi-Formen, wo meist oder doch vielfach die charakteristische Zuspitzung deutlich gesehen wurde. Die sehr zahlreichen mittelgroßen Kolonieen lieferten das gleiche Präparat wie die Sauerteigstäbchenkolonieen. Neben langen schönen Stäbchen kamen wieder verkürzte Formen und kurze Ketten vor. Die Kulturen machten durchaus den Eindruck, als ob im Preßhefeteig die typischen Sauerteigstäbchen auch zu finden wären. Im Widerspruch damit ist allerdings die Thatsache, daß man längere Stäbchen im Preßhefeteig in spärlicher Zahl, kürzere hingegen häufig findet. Doch dürfte diese Erscheinung mit Rücksicht auf die bei dieser Gruppe besonders große Variabilität und namentlich auch unter Hinweis auf die bei den Versuchen mit Sauerteig in dieser Beziehung gemachten Erfahrungen eine genügende Erklärung finden. — Bei Betrachtung der aus dem Agarcylinder durch Zerschneiden hergestellten Scheibchen mit schwacher Vergrößerung wurden zahlreiche Heferäschen, d. h. junge Hefekolonieen, wahrgenommen, die sich offenbar aus den eingeimpften Hefezellen entwickelt hatten.

Preßhefeteig II. Direkte Untersuchung im h. Tr.: Ganz ähnlich wie I, aber größere Stäbchen noch spärlicher. Es mußten viele Gesichtsfelder abgesucht werden, um ein einziges zu entdecken. Häufiger waren plumpe Kurzstäbchen, meist zu zweien. Im ganzen waren mindestens so viel Bakterien als Hefezellen. Kulturen in hoher Schicht in Traubenzuckeragar: Nach 3 Tagen hatten a und b kein Gas, wohl aber c, wo der Wattepropfen weggeschleudert worden war. In dem Wasser über dem Gummistopfen und aus einer Spalte im Inneren der Agarmasse konnte Hefe nicht gesehen werden, hingegen bewegliche Stäbchen von

regelmäßiger Form und im Mittel 5 μ Länge und 1 μ Dicke. Wahrscheinlich handelte es sich hier um einen sporenbildenden Gasbildner, der vielleicht nur in einer einzigen Kolonie vorhanden war, welche sich aber in Folge der Beweglichkeit der Stäbchen zwischen Glas und Agar überall hin verbreitet hatte. — Die Kolonieen unterschieden sich durch ihre Größe ziemlich voneinander, die meisten erreichten einen Durchmesser von $^1/_2$—$^3/_4$ mm, neben einigen auffallenden, größeren, in denen lactis acidi-ähnliche Bakterien gefunden wurden ohne deutliche Ausbildung des Spitzchens. Alle übrigen untersuchten Kolonieen zeigten das charakteristische Bild der Sauerteigstäbchen. Meistens entschiedenes Ueberwiegen der kurzen Formen mit einzelnen längeren Stäbchen. Ketten, aus Stäbchen ganz verschiedener Länge gebildet, fanden sich häufig. So wurden z. B. folgende Glieder an der gleichen Kette gemessen: 2; 4; 2; 1,5; 1,5 μ, ferner 4; 5; 2; 3 μ und 3; 1; 4; 1,5 μ. Kolonieen mit Individuen von meistens 3—4 und mehr μ Länge fehlten nicht. Zum Teil waren die langen Stäbchen verbogen, während in anderen Kolonieen wieder ganz normal geformte Zellen von 6—8 und mehr μ auftraten.

Preßhefeteig III. Direkte Untersuchung im h. Tr.: Vorherrschend kurze, dicke Formen zu zweien oder einzeln, darunter auch vereinzelte längere, welche aber nicht gesund, sondern etwas gekrümmt aussahen. Tr. Z. Agarkulturen in hoher Schicht: a-Röhrchen zeigte etwas Gas. Im ausgepreßten Wasser traten lange, teilweise fadenbildende, unbewegliche Stäbchen auf. Im Gläschen c, das immerhin noch etwa 100 Kolonieen enthielt, waren mit Rücksicht auf die Größe 2 Gruppen zu erkennen. Die größeren, von beinahe $^1/_2$ mm Durchmesser, bestanden aus typischen Sauerteigstäbchen, und zwar von jenem Typus, der neben 3—4 μ langen, regelmäßigen Stäbchen auch kürzere in größerer Zahl enthielt, die im Teilungsstadium an Diplokokken erinnerten. Kettchen waren nicht selten, darunter oft solche aus längeren und ganz kurzen Gliedern bestehend. Von den kleineren Kolonieen, die unter sich ganz gleiches Aussehen hatten und einen Durchmesser von nur $^1/_5$ mm erreichten, bekam man ein sehr verschiedenes Bild:

a) Kleine, an Bact. lactis acidi erinnernde Doppelstäbchen, aber an den Enden nicht zugespitzt.

b) Aehnlich, aber mit deutlichen, schlanken, etwa 2 μ langen und höchstens $^1/_2$ μ dicken Stäbchen untermischt.

c) Kokkenähnliche, aber krankhaft aussehende Zellen. Oft fanden sich Konglomerate, die die einzelnen Elemente nicht deutlich erkennen ließen.

d) Wiederum lactis acidi-ähnlich, aber nicht zugespitzt und eher etwas schmäler, vielfach zu zweien; auch Ketten fanden sich, und zwar sehr lange, bis über 50 μ messend, mit regelmäßigen Gliedern.

Preßhefeteig IV. Direkte Untersuchung: Vorwiegend lange Stäbchen, während kurze und dicke seltener waren. Tr. Z. Agarkulturen in hoher Schicht: Das a-Röhrchen entwickelte lebhaft Gas, von Hefe stammend, die hier aufkommen konnte. Die Hefezellen waren auffallend groß, elliptisch, größerer Durchmesser bis 10 μ. Diese Kultur zeigte so recht, welch großen Variationen die bekannten Stäbchen unterworfen sein können. Alle die vielen untersuchten Kolonieen bestanden aus diesen Stäbchen, und zwar herrschten lange, zum Teil recht lange Formen vor, wobei auch die Dicke der einzelnen Individuen von 0,8—1,2 μ variierte. Immer fanden sich lange und ganz kurze Stäbchen zu Doppelstäbchen resp. Ketten verbunden. Stäbchen von 10—20 μ waren nicht selten, in einzelnen Fällen sogar zeigten sich noch längere, die bis 30 μ maßen. Ab und zu enthielt eine Kolonie mehr kürzere Formen mit nur vereinzelt eingestreuten, über 5 μ langen Individuen.

Preßhefeteig V. Direkte Untersuchung: Auffallend wenig Bakterien. Kultur in hoher Schicht: Das a-Röhrchen war in starke Gärung geraten durch entwickelte Hefe, die man im angesammelten Wasser reichlich fand. Auf dünnen Schnitten durch das Agar konnten mit schwacher Vergrößerung in großer Menge kleine Sproßverbände gesehen werden, die oft nicht größer waren als ein großes Stärkekorn. In den Stäbchenkolonieen waren vorwiegend lange Formen vertreten, die in der Länge von 2—12 μ schwankten. Oft waren sie etwas hin und her gekrümmt und knäuelartig ineinander verflochten. Dann wurden wieder Präparate mit geraden Stäbchen und einer Länge von 2—30 μ gefunden. Sehr häufig waren Kolonieen ohne deutliche Stäbchen, wo die Individuen den Eindruck von Kokken machten, die aber keine regelmäßige Form aufwiesen, sondern zum Teil abgeplattet waren. In kurzen Kettchen waren sie breiter als lang.

Preßhefeteig VI. Direkte Untersuchung: Vorherrschen kurzer, dicker Stäbchen mit eingestreuten längeren, schlankeren. Kultur in hoher Schicht: a-Röhrchen zeigte ziemlich starke Gärung, wahrscheinlich durch unbewegliche Langstäbchen von 5 μ Länge und 1 μ Dicke veranlaßt. Hefe nicht beobachtet. Im c-Röhrchen waren ca. 30—40 gut isolierte, linsenförmige, glattrandige Kolonieen von $^1/_2$—1 mm Durchmesser. Sie enthielten typische Sauerteigstäbchen, die aber vielfach mit körnigen Elementen untermischt waren. Wahrscheinlich waren das Zerfallsprodukte der Stäbchen, denn vor der Untersuchung hatten die Kulturen 5 Tage bei 30° gestanden. Daneben fanden sich unter den größeren Kolonieen auch typische lactis acidi-Formen. Einige kleinere Kolonieen enthielten in der Form unbestimmte Bakterien, die unserer Ansicht nach Involutionsformen sein könnten; bald waren es dicke, kokkenartige Gebilde, dann wieder 6—10 μ lange, dünne, mehr oder weniger gekrümmte, stäbchenähnliche Elemente.

Preßhefeteig VII. Direkte Untersuchung: Verhältnismäßig viele Bakterien, am meisten von allen bisher untersuchten Proben, und zwar sowohl lange, als auch kurze und dicke. Kulturen in hoher Schicht: a-Röhrchen starke Gärung, so daß die Watte weggedrängt war. Auf dünnen Schnitten durch das Agar ließen sich mit schwacher Vergrößerung mit Leichtigkeit Hefekolonieen erkennnen. Die Bakterienkolonieen schieden sich in größere, spärlicher auftretende und kleinere zahlreichere. Die größeren dankten ihren Ursprung lactis acidi-ähnlichen, aber nicht deutlich zugespitzten und zudem sehr kleinen Zellen. Die kleineren hingegen zeigten ein ziemlich typisches Bild der Sauerteigstäbchen.

Da alle bis jetzt untersuchten Preßhefeteigproben von verschiedener Herkunft immer mit Leichtigkeit die Anwesenheit der Sauerteigstäbchen erkennen ließen, hielten wir es nicht für notwendig, die Arbeit nach dieser Richtung noch weiter auszudehnen.

Der Ausfall dieser Versuche ist in mehrfacher Richtung interessant. Einmal beweisen sie uns wieder, daß gasbildende Bakterien im gegangenen Teige durchaus nicht regelmäßig, sondern im Gegenteil recht spärlich anzutreffen sind. Die verwendeten Teige waren viel jünger als die Sauerteige und wurden immer spätestens einige Stunden, nachdem wir sie aus den Bäckereien entnommen hatten, verarbeitet. Trotzdem fanden wir nur in einer einzigen Probe Bact. levans, und auch dort nur in der Kultur mit der geringsten Verdünnung. — Im Gegensatz zu den Sauerteigproben konnte im Preßhefeteig meistens die Hefe zu kleinen, wenn auch nur mikroskopisch sichtbaren Kolonieen auswachsen und im Zusammenhang damit unter anaëroben Bedingungen einen Teil des im Nährboden enthaltenen Zuckers vergären. Diese Erscheinung ist offenbar zurückzuführen auf die Ernährungsverhältnisse, welche der Preßhefe bei ihrer Gewinnung geboten waren und die jedenfalls als günstigere zu bezeichnen sind gegenüber jenen, mit denen die Hefe des Sauerteigs vorlieb nehmen muß.

Des weiteren haben uns die Versuche gelehrt, daß in Bezug auf die Elemente der Flora zwischen Sauerteig und Preßhefeteig ein wesentlicher Unterschied nicht vorhanden ist. Konstant finden wir im Preßhefeteig neben der Hefe ein in seinen Dimensionen stark variierendes Stäbchen, das in jeder Beziehung den spezifischen Stäbchen des Sauerteigs entspricht.

Allerdings finden sich im Preßhefeteig die betreffenden Stäbchen im allgemeinen spärlicher und auch in weniger typischer Form als im Sauerteig. Ein Preßhefeteig ist deshalb gewöhnlich mikroskopisch

leicht von einem Sauerteigvorteig zu unterscheiden. Die Unterschiede werden aber verwischt, wenn man den Preßhefeteig einigemal nach Art der Sauerteigvermehrung behandelt, d. h. wenn man eine kleine Menge des Hefeteiges mit einer größeren Menge Mehl und dem entsprechenden Wasserquantum zu einem Teig verarbeitet, diesen gehen läßt und dann mit einem Teil des gegorenen Teiges von neuem eine Vermehrung vornimmt. So erhält man ein Produkt, das sich von einem wirklichen Sauerteig kaum mehr unterscheidet. Der Preßhefeteig ist gewissermaßen in einen Sauerteig übergeführt worden und kann nun ganz wie ein solcher verwendet werden. Der Vorgang ist leicht zu erklären. Ein frisch bereiteter Teig ist vor dem Aufgehen immer bakterienarm, möge er mit Preßhefe oder mit Sauerteig hergestellt worden sein. Im letzteren Falle sind aber immerhin in nicht unbedeutender Zahl Säurestäbchen dem frischen Teige einverleibt worden, welche seit Generationen an die im Mehlteig bestehenden Verhältnisse angepaßt sind und gewissermaßen nur darauf warten, eine Existenz weiterzuführen, die sie vom letzten Vermehrungsteige her gewohnt sind. Ganz anders beim Preßhefeteig. Hier sind es die als unvermeidliche Verunreinigung der Hefe aufzufassenden Säuerungsbakterien, welche die Anfänge der sich später entwickelnden Bakterienflora des Teiges bilden. Diese sind nicht an die neuen Existenzbedingungen angepaßt und haben außerdem gegenüber den Stäbchen des Sauerteiges insofern einen Nachteil zu ertragen, als sie die leicht gärfähigen Substanzen des Mehles mit einer größeren Zahl von Hefezellen teilen müssen als jene. Aber schon nach einer Vermehrung sind diese Verhältnisse etwas verschoben. Ein gewisser Stamm von Säurestäbchen ist in die neue Masse eingetreten und die Zahl der Hefezellen ist vermindert. Nach einigen Weiterimpfungen des Teiges stellt sich auf natürlichem Wege ein gewisses Gleichgewicht zwischen den beiden Organismen ein, wir haben jetzt einen Teig vom Charakter des Sauerteiges.

Thatsächlich kann man mikroskopisch verfolgen, wie bei solchen Vermehrungsserien, die ihren Ausgangspunkt in einem Preßhefebäckerteig haben, nach und nach in den einzelnen gegorenen Teigen nicht nur die Zahl der Stäbchen wächst, sondern daß auch innerhalb dieser Zahl das Verhältnis der regelmäßig geformten, 3—5 μ langen Säurestäbchen zu den kurzen, dicken Elementen zunimmt.

Ueber den Ursprung der Säurestäbchen im Preßhefeteig wurde oben schon eine Andeutung gemacht. Da es bekannt ist, daß in vielen gärungstechnischen Betrieben und speziell bei der Preßhefefabrikation neben der alkoholischen Gärung eine durch Bakterien bewirkte Milchsäuregärung verläuft, so war es naheliegend, die in den Bäckereien verwendete Hefe als Träger des Milchsäurefermentes anzunehmen. Andererseits war in Erwägung zu ziehen, ob nicht auch das Mehl diese Rolle spielen könnte. Einige diesbezügliche Versuche seien hier mitgeteilt.

a) Untersuchung der Preßhefe.

Aus 2 Bäckereien wurde je eine Probe von Preßhefe genommen und zunächst direkt im h. Tr. auf das Vorkommen von Bakterien geprüft. Die erste Probe zeigte neben den Hefezellen auch Stäbchen in nicht geringer Zahl. Dieselben waren unbeweglich, 3—4 μ lang, aber auch länger und dann meist ziemlich dünn. In der II. Probe schienen viel mehr Stäbchen zu sein, als in der ersten, und zwar neben den vorher genannten, relativ schlanken auch plumpe, dicke Stäbchen, sowie Diplokokken in großer Zahl. Hier hatte man den Eindruck, als ob die Zahl der Spaltpilze die Zahl der Sproßpilzzellen entschieden überträfe.

Für die Kulturen in hoher Schicht in Traubenzuckeragar wurde in das erste Gläschen nur eine Spur Preßhefe mit der ausgeglühten Platinnadel übertragen. Daraus wurde für eine weitere Verdünnung eine große Oese voll entnommen. Beide Hefeproben verhielten sich analog. Bei 36—37° war im a-Röhrchen schon nach 24 Stunden das Agar ziemlich stark zerklüftet. Eine Untersuchung der angesammelten Flüssigkeit ergab, daß darin Hefesproßverbände neben Bakterien reichlich vorkamen, ein Befund, der später beim Absuchen dünner Agarschnitte durch das Mikroskop seine Bestätigung erhielt. In den b-Kulturen schien nach 24 Stunden noch kein Wachstum erfolgt zu sein, erst nach 2 Tagen war dieses deutlich in Form von zahlreichen punktförmigen Kolonieen, die den Eindruck von Bakterienkolonieen machten. Gas war nicht vorhanden oder doch nur in unbedeutendem Maße. Diese Beobachtung nötigte zu folgender Schlußfolgerung: Entweder sind in b e i d e n Proben die Bakterienzellen viel zahlreicher als die Hefe (was dem Bild im Hängetropfen widerspricht), so daß in b nur noch Bakterienkolonieen entstehen konnten infolge der starken Verdünnung, oder aber: Von den im Mikroskope gesehenen Hefezellen des Preßhefepräparates ist eine Anzahl tot oder wenigstens nicht befähigt, unter den vorhandenen Umständen sich zu Kolonieen zu entwickeln. Letzterer Annahme steht nichts entgegen, zumal wenn man in Betracht zieht, daß die benutzte Temperatur von 36—37° C für das Wachstum der Hefe zum vorherein eine ungünstige ist.

Das mikroskopische Bild aller untersuchten Kolonieen machte durchaus den Eindruck der Stäbchen, die wir im Sauerteig und Preßhefeteig immer antrafen. Länge und Dicke der einzelnen Individuen in den verschiedenen Kolonieen schwankten stark, doch fallen bei der großen Variabilität der Sauerteigstäbchen daherrührende Unterschiede nicht schwer ins Gewicht und man kann wohl sagen, daß die Kulturen aus beiden Preßhefeproben so ziemlich Reinkulturen der Sauerteigstäbchen darstellten. Die kurzen, dicken, kokkenartigen Formen wurden niemals gefunden, lange und mit langen gemischte Stäbchen herrschten immer vor.

b) Untersuchung des Mehles.

Von 4 Proben wurde je eine große Messerspitze voll in 10 ccm sterilem Wasser gut zerteilt und für die Impfung des Trauben-

zuckeragargläschens so viel verwendet, als an einem vorher sterilisierten Glasstab nach kräftigem Umrühren hängen blieb, jedenfalls bedeutend mehr, als man mit einer gewöhnlichen großen Platinöse erhalten hätte. Der Glasstab wurde nach dem Herausziehen aus dem Agargläschen direkt in einem zweiten Traubenzuckeragargläschen abgespült, um eine weitere Verdünnung zu erzielen. — Die Kulturen waren durchweg recht dünn bewachsen. Bei einer Mehlprobe war Gasbildung eingetreten, bewirkt durch Bact. levans. Von den untersuchten Kolonieen bot fast jede wieder ein anderes Bild, aber keine das der typischen Sauerteigstäbchen. Kokken, Sarcinen, bewegliche und unbewegliche Kurzstäbchen wechselten miteinander ab. Die Aussicht, auf diese Weise der typischen Sauerteigstäbchen habhaft zu werden, muß, nach diesen Versuchen zu schließen, eine sehr geringe sein.

Daß die fraglichen Stäbchen im Mehl in nennenswerter Menge nicht enthalten sind, dafür spricht auch das mikroskopische Bild, welches Präparate aus jungen, nur mit Mehl und Wasser hergestellten Teigen bieten. Niemals sind uns dabei Formen, wie man sie im Sauerteig massenhaft zu sehen Gelegenheit hat, begegnet.

Für den Preßhefeteig wäre somit die Frage nach der Herkunft der säurebildenden Stäbchen, entsprechend unserer Annahme, in dem Sinne gelöst, daß sie dem Mehle mit der Preßhefe zugefügt werden.

Die Frage nach der Herkunft der säurebildenden Stäbchen im Sauerteig wird in ähnlicher Weise beantwortet werden müssen. Da aber die Hefe bereits einen charakteristischen Bestandteil des Sauerteigs bildet und nicht erst zugesetzt wird, so fällt hier die erwähnte Frage zusammen mit derjenigen nach der Herkunft der Sauerteighefe oder nach dem Ursprung des Sauerteiges überhaupt.

7. Der Ursprung des Sauerteiges.

Wenn einem Bäcker oder Bauer durch irgend einen Zufall sein Sauerteig verdirbt oder verloren geht, so sucht er bei einem befreundeten Berufsgenossen das für die Brotbereitung so notwendige Ferment sich wieder zu erwerben und züchtet dieses weiter, wie er es gewohnt ist. In früheren Zeiten, die einem Verkehr von Personen und Waren weniger günstig waren, mag an entlegenen Orten und Gehöften der Sauerteig wie ein kostbares Gut behandelt worden sein, dessen Pflege und zweckmäßiger Aufbewahrung die größte Sorgfalt gewidmet wurde.

Wenn man auch bei Verwendung des Sauerteiges in der Praxis bei der Fortzüchtung anscheinend an strenge Kontinuität gebunden ist, so darf doch die Möglichkeit erörtert werden, ob gewissermaßen auf spontanem Wege Teig mit den Eigenschaften des Sauerteiges entstehen könnte.

Bekanntlich sind Hefepilze in der Luft nicht selten und werden auch in geringer Zahl im Mehle verhanden sein, obschon sie durch gewöhnliche Plattenaussaaten hier nicht nachgewiesen werden können. Doch wäre es denkbar, daß sie sich z. B. bei der spontanen, durch

Bakterien bewirkten Teiggärung ebenfalls vermehren, bei der Weiterzüchtung eines solchen Teiges an der Gärung anfänglich geringen Anteil nehmen, aber bei fortgesetzter Vermehrung desselben die Bakterien ganz verdrängen. Den folgenden Versuchen hat dieser Gedankengang zu Grunde gelegen:

Wir züchteten einen Mehlteig 10 Tage durch öfteres Auffrischen weiter und untersuchten denselben von Zeit zu Zeit auf die Zusammensetzung seiner Flora. Immer nach 24 Stunden wurde wieder ein neuer Teig mit einem Teile des Teiges vom vorhergehenden Tage zusammengeknetet. Die Proben standen unbedeckt an einem warmen Orte. Dieser gewöhnliche Mehlteig wurde also ganz gleich weitergezogen, wie dies der Bäcker mit seinem Sauerteig thut. Das Resultat war ein einigermaßen überraschendes. An den ersten 2 Tagen war jedesmal nach 24 Stunden schwache Gärung bemerkbar. Am 2. Tage wurden Kulturen auf Gelatineplatten angesetzt. Auf den Platten wuchsen hauptsächlich Kolonieen des gelben Gasbildners nebst einigen von Bact. levans und einigen wenigen von die Gelatine verflüssigenden Spaltpilzen. Hefe war nicht nachweisbar. Nach 4 Tagen wurden zum zweitenmal Platten, und zwar diesmal von Gelatine und Agar gegossen. Bis jetzt hatten die Teigproben jeden Tag schwache Gärung gezeigt, am 4. Tage war sie am schwächsten. Von nun an hörte sie vollständig auf und trat bis zum 10. Tage, wo der Versuch abgebrochen wurde, nicht mehr ein. Die Erklärung zu diesem Verhalten gab die Untersuchung der Platten vom 4. Tage. Diese zeigten völlige Abwesenheit von Hefe, aber auch von gärungserregenden Bakterien. Dagegen wuchsen zahlreiche weißliche, rundliche Kolonieen von höchstens 0,5 mm Durchmesser, deren Individuen typische lactis acidi-Form hatten. Zwischen den mit unbewaffnetem Auge sichtbaren Kolonieen der erwähnten Art waren mit scharfer Lupe noch vielleicht ebenso viele Kolonieen erkennbar, welche Stäbchen enthielten, die der Form nach als atypische Bact. lactis acidi bezeichnet werden konnen. Vermutlich haben wir es auch hier mit einem Milchsäurebakterium zu thun.

Am 7. Tage der Versuchsperiode wurden neuerdings Teigkulturen auf Gelatine- und Agarplatten eingeleitet. Die Agarplatten standen diesmal bei 30°, um nicht durch die Bruttemperatur Bact. lactis acidi zu schädigen. Abgesehen von einigen zufälligen Verunreinigungen durch Kokken zeigten die Platten wiederum nur Kolonieen von Milchsäurebakterien. Auch bei längerem Aufbewahren wuchs keine einzige Hefekolonie. Als auch am 10. Tage ein Aufgehen des Teiges nicht erfolgte, wurde diese Versuchsreihe abgebrochen uud dafür eine neue begonnen.

Diesmal wurde erst nach 2 × 24 Stunden zur Vermehrung geschritten, um jeweilen den Rest eines kräftig gegorenen Teiges zusetzen zu können. Am Resultate wurde dadurch nichts geändert. Der erste Teig kam in starke Gärung, aber schon der zweite gärte nach 2 × 24 Stunden kaum und von nun an machte sich nie mehr auch nur eine Spur von Aufgehen bemerkbar. Platten aus dem zweiten Teig geimpft, also 4 Tage nach Beginn der Versuchsreihe,

hatten noch einige Kolonien der Gasbildner. Auf der a-Platte waren ca. 30 Kolonieen von Bact. levans neben fast 100000 lactis acidi-Kolonieen. Der gelbe Gasbildner fehlte ganz. Auf der b-Platte waren nur noch Milchsäurebakterien.

Diese Versuche lehren uns zweierlei:

1) Die gasbildenden Bakterien können, was schon Boutroux aufgefallen ist, auf dem Wege der gewöhnlichen Teigvermehrung auch dort, wo keine Hefe vorhanden ist, nicht weiter gezüchtet werden. Im Sauerteige trägt also auch nicht die Hefe die Schuld, daß sie nicht aufkommen können. Sie werden vielmehr allmählich von Milchsäurebakterien verdrängt und sind im spontanen Teig schon nach 4 Tagen vollständig abgetötet.

2) Durch Stehenlassen und Vermehrung des gewöhnlichen Mehlteiges an der Luft kann Sauerteig nicht gebildet werden. Es ist daher anzunehmen, daß die zur Zeit benutzten Sauerteige und namentlich auch diejenigen, die auf abgelegenen Gehöften seit Menschengedenken weitergezüchtet werden, auf einen Ausgangsteig zurückzuführen sind, der unter Zusatz von Hefe hergestellt worden ist. Mit dieser Annahme stimmen folgende, dem Bäckerbuch entnommene Angaben vollständig überein: Schon im Altertum wurde der Teig gesäuert. Das dazu nötige Gärungsmittel wurde entweder in größeren Mengen im Vorrat gehalten oder für den jedesmaligen Gebrauch zubereitet. Es waren Dauerhefen, die meistens während der Weinlese hergestellt wurden. Hirse oder Weizenkleie wurde mit jungem Most zu einem dicken Teig geknetet. Daraus formte man Kuchen, trocknete diese an der Sonne und erhielt ein Gärmittel, welches das ganze Jahr über hielt. Beim Gebrauch wurde von dem Kuchen ein Stückchen losgelöst, im Wasser aufgeweicht und dann dem Teige beigemengt. Zu beliebiger Zeit wurden auch Kuchen aus einem mit Wasser angekneteten Gerstenmehl geformt und bis zum Sauerwerden liegen gelassen. Auch die sogenannten „Vorteige“ waren im alten Rom schon bekannt. Als Ferment war auch der Saft von Weintrauben üblich, die man vorher ins Wasser legte und darin ausspreßte; ebenso in Gallien und Spanien eine Art Bierhefe, nämlich der verdickte Schaum von Getränken, die aus Getreide bereitet waren.

(Schluß folgt.)

The Aëration of Milk.

By **Charles E. Marshall,**

Bacteriologist and Hygienist of Experiment Station Michigan Agricultural College Michigan.

With 1 figure.

(Schluß.)

XVII. The Action of Carbon Dioxide upon Bacteria when Cultivated in Milk.

To simulate the carbon dioxide content of milk, it became necessary to employ sterilized milk in tubes which were inoculated

with the various micro-organisms under consideration and to subject one set of these tubes to the action of carbon dioxide conditions. For this purpose we inoculated with identical amounts of the various germs two sets of milk tubes, one set remained exposed to the air, the other set was placed in Novy's anaërobic bottle into which was passed 77,7 per cent of carbon dioxide. This was allowed to stand twenty hours when plates were made from the aërobic set and at the same time from the anaërobic set. Care was taken to use the same measure for each germ under study. In the same way the second series was executed, but instead of using 77,7 per cent. of carbon dioxide, 60,02 per cent. was used. The result of this work will be found in the table below: —

Table XV.
(Action of carbon dioxide upon bacteria when cultivated in milk.)

	I		II	
	No. of colonies in one measure from		No. of colonies in one measure from	
No. of micro-organism	Tube milk cultures grown in 77,7% CO_2	Tube milk cultures grown in air as check	Tube milk cultures grown in 60,02% CO_2	Tube milk cultures grown in air as check
119	256	10 868	6 460	34 660
120	64 484	2 920 320	28 620	71 550
121	34 320	25 430	30 719	24 708
122	114 400	572 000	25 758	57 240
123	10 868	71 500	968	7 200
124	68 640	143 100	19 461	33 580
125	6 840	22 880	620	20 460
126	1 716	34 320	193	3 444
127	9 152	102 966	—	—
128	172 600	257 400	18 889	21 083
129	25	1 600	—	—
130	—	—	1 621	2 671
131	21 736	286 000	17 588	17 935
132	2 432	21 736	200	5 600
133	2 860	6 292	4 100	35 300
134	5 720	64 074	580	8 160

Sterilized milk from which the carbon dioxide has been expelled may be inoculated with micro-organisms, and if exposed to the action of an atmosphere of carbon dioxide shows some retardation in the development of these micro-organisms. Furthermore the action of the carbon dioxide upon milk cultures corresponds very closely to the action of carbon dioxide upon plate cultures. There appears to be the same retarding and, in some cases, inhibiting influences at work as had been so noticeable in the preceding tables.

XVIII. Action of Carbon Dioxide upon Bacteria when Cultivated in Bouillon.

The results given in the following table were obtained by

taking bouillon tubes and inoculating two sets; one set was placed in the air as check and the other was placed in 88,5 per cent. carbon dioxide. The methods of measurement employed were identical with these in the previous milk culture experiment.

Table XVI.
(Action of carbon dioxide upon bacteria when grown in bouillon.)

No. of Micro-organism	Tubes grown in 88,5 % CO_2	Tubes in air as check
119	No growth	Dense growth
120	Retarded development [1]	" "
121	No growth	Slight development
122	Retarded development	Dense growth
123	No growth	" "
124	Retarded development	" "
125	No growth	" "
126	" "	" "
127	" "	" "
128	Retarded development	" "
129	No growth	" "
130	Slight development [2]	" "
131	Retarded development	" "
132	Slight development	" "
133	Now growth	" "
134	Slight development	" "

Table XVI clearly demonstrates also that the density of development of the two sets of bouillon tubes varies, and that in some cases there is no development so far as cloudiness is any indication, while in other cases there has been only a retarding action. The results in this table agree with those obtained in plate and milk cultures. (Tables X, XII, XIII, XIV, XV.)

XIX. How an Atmosphere of Carbon Dioxide Influences the Character of the Fermentation of Milk.

To pursue a study of this subject we have felt it necessary to use the so called Hesse flasks. These were filled with milk which after sterilizing were inoculated. The air in the flasks above the milk was expelled by passing carbon dioxide until complete substitution had been made. Since as shown in the previous tables the action of carbon dioxide is marked by its retarding or inhibiting the growth of bacteria it is not necessary to consider it further but rather to study the peculiar influence which the gas exerts upon the character of the fermentation of milk caused by specific bacteria.

---

1) Retarded development = Slightly less cloudy than air tubes.
2) Slight development = Growth only preceptible.

Table XVII.
(How an atmosphere of CO_2 influences milk fermentation.)

No. of micro-organism	119	120
Culture in air	Complete peptonization with yellow pigment [1])	Soft curd
Culture in CO_2	Curdled and no pigment, perhaps slight peptonization	No change apparent

No. of micro-organism	121	122	123	125
Culture in air	Solid curd	Solid curd	Peptonized completely	Peptonized completely
Culture in CO_2	Solid curd	No apparent change	Curdled only	Curdled only

No. of micro-organism	126	128	129	130
Culture in air	No apparent change	Curdled	Peptonized completely	Peptonized completely
Culture in CO_2	No apparent change	Curdled	Curdled	No apparent change

No. of micro-organism	131	132	133	134
Culture in air	Solid curd	No apparent change	No change	Solid curd
Culture in CO_2	No change perceptible	No apparent change	No change	No change

The general conclusion to be reached from a study of this table is the checking or total inhibition of the fermentation. In germ 119, a pigment micro-organism, the formation of pigment has entirely failed to develop. In other cases the air check has given rise to a slight curd, whereas in the carbon dioxide flask there was no apparent change in the milk. The peptonizing germs which are capable of completely peptonizing milk when exposed to air in the carbon dioxide flask, apparently stopped with the curdling of milk and only very slight if any peptonization. It follows therefore, that carbon dioxide may influence the character of the fermentation even when allowed to continue for one month. These differences begin to appear within twenty four hours after inoculation and persist throughout. Yet where complete peptonization occurs in the air cultures and only curdling in the carbon dioxide cultures, it must be understood that the curdling is also an intermediate stage in the fermentation of the air cultures. At this point I desire to call the readers attention to the comparison of the Table (No. XXIV) which indicates the retarding influences or inhibiting influences of anaërated milk upon bacteria. These will be found in later discussions.

1) These cultures were one month old before recording results.

XX. Action of Hydrogen upon the Development of Specific Bacteria.

It is pertinent to place against the previous work, the action of hydrogen upon the micro-organisms which have been studied thus far. The purpose of this is, not only to check the previous work but to indicate whether the results obtained thus far are entirely due to carbon dioxide present, or to what may be regarded as the anaërobic conditions. To speak of these conditions without defining exactly their nature must, of course, leave us somewhat in darkness, but this must always remain so until more is known concerning anaërobic life. It is a common practice to use hydrogen in securing anaërobic conditions; for this reason, a comparison of hydrogen with carbon dioxide may be of interest. The methods were the same as in the previous work. Table XVIII tabulates the results.

Table XVIII. (Action of hydrogen upon the development of specific Bacteria.)

No. of micro-organism	Plates development in hydrogen		Plates development in air as check	
	Growth	No. of colonies	Growth	No. of colonies
119	n. g.	—	v. g.	1200
120	r. g.	1500	v. g.	1540
121	v. g.	4592	v. g.	5166
122	r. g.	3200	v. g.	4480
123	n. g.	—	v. g.	1158
124	r. g.	6400	v. g.	9600
126	n. g.	—	v. g.	3100
127	n. g.	—	v. g.	720
128	r. g.	3900	v. g.	4576
129	—	—	—	—
130	r. g.	1500	v. g.	4400
131	r. g.	1300	v. g.	1580
132	n. g.	—	v. g.	1120
133	n. g.	—	v. g.	1440
134	v. g.	1680	v. g.	1740

From this table there will be found a very close similarity in the results as found in the case of carbon dioxide. The differences are so slight that in a general conclusion they may be overlooked.

XXI. Action of Nitrogen upon the Specific Bacteria Studied.

Nitrogen in this case is considered, or the residual gas left after the absorption of oxygen from the air by the use of alkaline pyrogallate. Of the plate cultures, one set remained in the air as check and the other set was placed in a jar from which the oxygen was absorbed. The plates were made by the same methods used heretofore. The results are tabulated in Table XIX.

Table XIX.

No. of micro-organisms	Plates developed in nitrogen (air-oxygen)		Plates developed in air as check	
	Growth	No. of colonies	Growth	No. of colonies
119	v. g.	8320	v. g.	9600
120	v. g.	9000	v. g.	8400
121	—	—	—	—
122	v. g.	1850	v. g.	1800
123	r. g.	1625	v. g.	1785
124	v. g.	2200	v. g.	2324
126	r. g.	256	v. g.	3840
127	n. g.	—	v. g.	1508
128	—	—	—	—
129	—	—	—	—
130	Liquefied	—	Liquefid	—
131	v. g.	2020	v. g.	1785
132	r. g.	5120	v. g.	5760
133	r. g.	880	v. g.	1560
134	v. g.	innumerable	v. g.	innumerable

Nitrogen or the residual gas resulting from the absorption of oxygen from the air does not appear to have the same detrimental effect upon these micro-organisms as either the carbon dioxide or hydrogen. We are led to believe, therefore, that the gases themselves play an important part in the restraining influences exercised when these gases are employed and the injurious effects observed may be counted as reaching beyond that which may be considered as purely anaërobic conditions. There is a retarding and inhibiting influence caused by carbon dioxide and also by hydrogen. In the case of milk, it must of course be due to the carbon dioxide alone so far as the action of a gas is concerned. It is generally considered that hydrogen is not an inert gas when employed for the cultivation or anaërobic bacteria (Novy, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. S. 586). Liborius has shown that carbon dioxide likewise is not suitable as an atmosphere for anaërobiosis (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. III. S. 768). Fraenkel in the case of symptomatic anthrax bacillus and malignant edema bacillus found carbon dioxide completely checking the growth and apparently killing the bacteria (Zeitschr. f. Hyg. Bd. V. S. 323).

The conclusion reached regarding nitrogen should be regarded as indicative of a wide influenca exerted by gases in the production of anaërobiosis. While the prime essential to anaërobiosis is an absence of oxygen, yet there must usually be associated with this absence a substitute gas which necessarily imparts to the germ environment favorable or unfavorable factors in the determination of active cell metabolism and cell growth. It becomes therefore exceedingly difficult to definitely state the actual conditions of anaërobiosis.

Before arriving at a definite and specific notion of what is involved in the process of aëration, other factors, than carbon

dioxide have to be considered. One of these is the relation of acidity to the growth and increase of micro-organisms.

XXII. The Influence of Lactic Acid as Found in Whey Obtained from Milk of Different Degrees of Acidity.

It is necessary after studyng the influence of carbon dioxide upon the growth of micro-organisms in milk and ascertaining its probable influence and to what extent its influence may be exerted, to consider the action of lactic acid upon germ life as it is produced during the fermentation of milk. Moreover no factor which apparently has a direct bear upon the germ-content of milk can be eliminated without a possible detriment to the conclusions about to be drawn later, consequently it is evident that this item has a very pertinent connection. It is well established that anaërobic conditions sometimes alters the acidity of cultures, primarily as the result of the functional activity of the cell influenced by the exclusion of oxygen. The important bearing of this fact will be brought out more prominently as we continue our studies.

We have sought to obtain the actual fermentation products without materially interfering with the food qualities of the milk. It is well known that as soon as the acidity increases slightly, the milk is more likely to curdle during the process of sterilization; in other words heat favors the curdling of milk in the presence of traces of acid while the same milk in the cold shows no formation of curd. It is evident that in order to secure the fermentation products, the curd must be removed and some other nitrogenous substance added to take its place. The milk was allowed to sour for variable lengths of time after which it was heated. The curd was now removed and one per cent of peptone added. The media were then clarified and the acidity determined when they were sterilized in the ordinary manner. The media thus prepared and having different acidities were inoculated with the various micro-organisms. In this way the influence of the fermentation products could be studied.

The table below indicates by a (+) plus sign the micro-organisms having grown and the (—) minus sign the micro-organisms having failed to grow.

(See table XX pag. 490.)

From the above table it will be interesting to note how some of the germs which seemed the least resistant to carbon dioxide are most resistant to the acid. No. 123 is a good illustration of this. In some of the other cases there is a corresponding apparent inhibition due to the acid as was previously due to the carbon dioxide. Consequently some attention must be given to the direct bearing of the acidity upon the growth of micro-organisms in milk; accordingly a study of carbon dioxide in its action upon the indicator (phenolphthaleïn) should be made before considering the direct bearing the acidity has upon aëration, for it is very evident that the acidity of milk may be very erroneously estimated if the

(Table XX. The influence of lactic acid as found in whey obtained from milk of different degrees of acidity.)

Per cent. acidity (Estimated as lactic acid). No. of micro-organism	0,162	.0,261	0,306	0,333	0,351
119	+	—	—	—	—
120	+	+	+	+	—
121	+	—	—	—	—
122	+	+	+	+	—
123	+	+	+	+	—
124	+	+	—	—	—
125	+	—	—	—	—
126	+	—	—	—	—
127	+	—	—	—	—
128	+	+	+	—	—
129	+	—	—	—	—
130	+	—	—	—	—
131	+	+	+	+	—
132	+	+	—	—	—
133	+	—	—	—	—
134	+	+	+	+	+

indicator does not satisfactorially respond. The action of carbon dioxide upon phenolphthaleïn is well known.

XXIII. How Carbon Dioxide may Increase the Acidity of milk to Phenolphthaleïn.

Two Hesse flasks containing milk were sterilized, one was allowed to remain in contact with the air and the other had passed into it carbon dioxide to complete substitution. The following brief statement gives the results:

At the end of 48 hours the flask of milk exposed to the air gave in acidity 16° (0,144 %, estimated as lactic acid); the companion flask filled with carbon dioxide gave 37° (0,333 %) acidity.

This study is purposely made as explanatory to what follows. Phenol phthaleïn is the most satisfactory indicator for measuring the acidity, yet the influence of carbon dioxide and of acid phosphates upon it should be constantly regarded in the consideration of this work otherwise misinterpretations may follow. In the case above there has been practically an increase of over 0,1 % acidity, yet further work indicates that there is a greater difference in the amount of acidity produced in carbon dioxide cultures as compared with that produced in air cultures than can be accounted for by the influence of carbon dioxide upon the indicator.

XXIV. How Carbon Dioxide may Increase the Acidity of Milk Cultures of Specific Bacteria.

Bearing in mind that carbon dioxide and acid phosphates may in and of themselves increase the acidity from 0,2 % to 0,3 %,

yet the table which is appended indicates in many instances an advanced increase beyond this limit; in other wards the acidity is greated than that which can be accounted for by the carbon dioxide alone, the acid phosphate being equal in both instances. However, care should be taken to allow in each case, at least 0,2 % for the possible increase due to carbon dioxide present in cultures. Perhaps other indicators might be found which would avoid the trouble experienced by the use of phenol phthaleïn still cochineal, methyl orange, rosolic acid and litmus were tried and the results were even more unsatisfactory. The table below in several instances will give such an increase in the acidity, that to account for it by the presence of carbon dioxide would apparently be fallacious. We have not been able to increase the acidity of milk 0,5 % simply by saturation with carbon dioxide as was done in the Hesse flasks in which the acidity was increased 0,189 %.

Table XXI. (How carbon dioxide may increase the acidity of milk cultures of specific Bacteria.)

No. of micro-organism	119	120	121	122	113	124	125	126
Acidity of air cultures	0,054	0,18	0,72	0,176	0,029	—	0,118	0,137
Acidity of CO_2 cultures	0,36	0,68	1,06	0,622	0,529	—	0,515	0,436

No. of micro-organism	127	128	129	130	131	132	133	134
Acidity of air cultures	—	0,641	0,173	0,094	0,580	neut.	0,036	0,670
Acidity of CO_2 cultures	—	0,659	0,432	0,486	0,731	0,522	0,367	0,720

The only conclusion that can be drawn from germs 120, 122, 123, 125, 126, 129, 130, 132 and 133 is that the acidity produced must be in part due to the conditions under which they were grown. I find this further proved by the use of hydrogen in place of carbon dioxide, although the results differ.

XXV. How Hydrogen may Effect the Acidity of Milk Cultures of Specific Bacteria.

Here again we find that the acidity varies when the micro-organisms in question are grown under hydrogen, but not exactly in the same way as carbon dioxide. The methods employed were identical with those used in studying the influences of carbon dioxide. The following table will indicate the influence of hydrogen: —

Table XXII. (Hydrogen anaërobic conditions as compared with aërobic conditions regarding the acidity produced.)

No. of micro-organism	119	120	121	122	123	124	125	126
Acidity of air cultures	0,094	0,518	0,472	0,522	0,284	0,796	0,288	0,576
Acidity of hydrogen cultures	0,085	0,63	0,461	0,551	0,292	0,418	0,299	0,706

No. of micro-organism	128	129	130	131	132	133	134	Control
Acidity of air cultures	0,742	0,112	0,220	0,680	0,212	0,086	—	0,162
Acidity of hydrogen cultures	0,518	0,209	0,310	0,641	0,277	0,166	—	0,162

XXVI. Is It the Carbon Dioxide which Causes a Constant Rise of Acidity in Confined Milk in Contradistinction to Milk Exposed to the Air.

In this test, tubes were completely filled with milk, plugged so as to exclude all air, and the stoppered ends were placed in mercury. The milk used was from a sample obtained immediately after milking. The tubes and stoppers were sterile. Some of the same sample was placed in a Fernbach flask so as to form a layer 1 cm. thick. The acidity of the milk was 16° or 0,144 per cent (estimated as lactic acid). The milk remained confined and also exposed for 16 hours. The summary of the work is as follows: —

Milk confined for 16 hours gave 16° (0,144 %) acidity.

Milk exposed for 16 hours gave 13,5° (0,1215 %) acidity. (In tin vessel.)

Confined milk run drop by drop over six foot tin surface gave 14,5° (0,1305 %) acidity, a reduction of 1,5° (0,0135 %) in the acidity.

Confined milk brought to a brisk boil gave 14,5° (0,1305 %) acidity, a reduction of 1,5° (0,0135 %) in the acidity.

Here we have an indication that carbon dioxide accounts for at least 1,5° acidity, consequently a study of the acidity in confined milk without the influence of any gas has been undertaken.

XXVII. Influence of Confinement of Milk upon Acidity.

The milk samples for these tests, the results of which are given in tabulated form, were, in each case, carried out in exactly the same manner as in the preceding experiment; that is, the milk confined and also that exposed to the air came from the same lot which was procured immediately after milking. In no instance was air allowed to remain in the tubes. If we go back and recall the gas-content of milk as found to exist immediately after milking the percentage of carbon dioxide in the pumped gases would be about sixty. If carbon dioxide in the free state is the determining factor then there should exist corresponding results in acidity, likewise in the number of germs involved in the fermentation.

(See table XXIII pag. 493.)

These tables are fairly representative of the results obtained after a great many tests. Usually the milk confined does not fall any in acidity from the time when it is put up to the time when it begins to increase in acidity. Occasionally it will fall slightly. In the case of exposed milk in Fernbach flask of glass there is a falling off in acidity for a time, then there follows a rapid

Table XXIII.

(Influence of confinement of milk upon the acidity.)
(Numbers represent percentages calculated as lactic acid.)

Test I.

	Confined	Exposed over glass	Exposed over tin
After milking	0,1125	0,1125	0,1125
„ 21 hrs.	0,1122	0,072	0,054
„ 39 „	0,1305	0,072	0,054
„ 48 „	0,1395	0,035	0,045
„ 87 „	0,162	0,0675	0,195

Test II.

	Confined	Exposed over glass	Exposed over tin
After milking	0,1215	0,1215	0,1215
„ 20½ hrs.	0,126	0,09	0,09
„ 24 hrs.	0,135	0,09	0,09
„ 40 „	0,144	0,117	0,1385
„ 48 „	0,144	0,126	0,225
„ 64 „	0,144	0,198	0,315
„ 69 „	0,198	0,2295	0,342
„ 88 „	0,1755	0,378	0,486
„ 96 „	0,1755	0,423	0,513

Test III.

	Confined	Exposed over glass	Exposed over tin
After milking	0,135	0,135	0,135
„ 4 hrs.	0,162	0,162	0,144
„ 8 „	0,1625	0,144	0,135
„ 13 „	0,171	0,144	0,144
„ 18 „	0,180	0,180	0,405
„ 26 „	0,495	0,4365	0,531
„ 34 „	0,7875	0,666	0,693

increase until the milk completes its full fermentation. It is interesting also to note that in the case of a tin vessel made in the form of the Fernbach flask the falling off in acidity is much more noticeable: and usually after the acidity begins to increase, this increase is much more rapid than in the case of the glass Fernbach flask. These tables also show that usually the milk exposed to the air under the conditions given sours more rapidly than when confined; occasionally, but seldom, as in Test III, the reverse is the case. I have inserted this test as one that is somewhat rare. Tests I and II represent the usual results obtained.

In connection with the acidity of milk, several problems present themselves which cast some light upon its gas-content. Unaërated milk containing 60 % carbon dioxide of the pumped gases does not act the same as milk which has had 60 % carbon

dioxide maintained over its surface and with which it was mixed, consequently the milk is not saturated with the gas or the gas is in loose combination and inert. We find that milk after milking has about 60 % carbon dioxide of the pumped gases which we estimate as free carbon dioxide and this will give a low estimate of acidity when phenol phthalein is used as an indicator, in fact the acidity is regarded as normal, but as soon as the free carbon dioxide is passed into the milk or the same percentage maintained over it immediately the acidity ascends rapidly thus pointing to a further solution of carbon dioxide. This condition may be explained by the solubility of carbon dioxide. Normal milk cannot be considered saturated with this gas. By passing carbon dioxide into the milk the acidity to phenol phtalein rises from 13° (0,117 %) acid to 19° (0,171 %) in ten minutes, to 28° (0,252 %) in thirty minutes, to 38° (0,342 %) in twenty minutes. This does not correspond in any manner to confined milk other than the fact that confined milk does not fall in acidity until fermentation sets in as does exposed milk.

XXVIII. Do Unaërated Conditions of Milk Tend to Hold Bacteria in Check?

In these tests, three of which are recorded as representative, I have endeavored to study the germ content in milk subjected to exactly the same conditions as we found in the previous study of acidity. The same sample of milk was used in each instance and great care exercised in securing exact dilutions and measures. In each count several plates were made from each sample and the average taken.

(See table XXIV pag. 495.)

In the above tables it will be very apparent that the confined conditions of milk tend to reduce the number of bacteria. The germs in milk exposed to air far exceed the number of germs in unexposed milk. Compare too the milk exposed over glass and the milk exposed over tin, the tin receptacle seems to favor the development of bacteria. This corresponds very closely to the previous tables in which a study of the production of acidity has been made. Why tin under these conditions favors the development of bacteria over the development of bacteria in a glass receptacle (unless the tin combines with carbon dioxide and reduces the amount of lactic acid) is difficult to explain inasmuch as there appears to be some germicidal action instigated by bringing media in contact with metals. One factor however remains. In the case of tin we have a dark vessel and in the case of glass the entrance of light rays, although in a semi-dark room, may account for the reduced numbers in the glass vessel below those in the tin vessel. This hardly seems credible however. The explanation will probably be found in the tin surface's of finily for carbon dioxide and lactic acid.

An attempt is further made to ascertain whether by growing the plates, made from the milk in confinment, in hydrogen, would

Table XXIV.

(Do unaërated conditions of milk tend to hold bacteria in check?)

Test I.

	Confined	Exposed over glass	Exposed over tin
After milking	8 400	8 400	8 400
„ 21 hrs.	31 950	336 300	14 096 400
„ 39 „	756 000	84 292 500	125 650 500 curdled
„ 48 „	1 096 000	215 205 000 curdled	250 739 000
„ 87 „	1 747 500 000	8 142 500 000	10 037 500 000

Test II.

	Confined	Exposed over glass	Exposed over tin
After milking	6 620	6 620	6 620
„ $20^1/_2$ hr.	31 850	46 750	331 400
„ 24 hrs.	35 950	62 250	798 150
„ 40 „	360 000	53 282 000	914 895 000 curdled
„ 48 „	773 000	109 999 000 curdled	1 069 205 000
„ 64 „	160 000 000	877 500 000	3 722 500 000
„ 69 „	155 000 000	2 570 000 000	1 702 500 000
„ 88 „	112 500 000	1 760 000 000	1 650 000 000
„ 96 „	75 000 000	1 517 500 000	1 227 500 000

Test III.

	Confined	Exposed over glass	Exposed over tin
After milking	1 280	1 280	1 280
„ 4 hrs.	4 650	5 120	9 400
„ 8 „	76 950	557 950	1 236 750
„ 13 „	2 779 300	15 582 000	21 036 500
„ 18 „	41 105 750	66 301 750	90 782 560 curdled
„ 26 „	333 939 000	454 522 000 curdled	724 632 000

increase the number of colonies developing. Several tests thus made only served in reducing the number of colonies instead of increasing them. We can understand this to be due to the action of hydrogen.

XXIX. Does Aëration Influence the Germicidal Action of Milk?

This interesting action of milk should not be passed over in connection with the possible influence aëration may have upon it. The impetus given to this work by Conn and Hunziker led me to attempt to ascertain whether milk unexposed to the air would have a greater or less germicidal action than milk exposed

to the air. Several tests were made six of which are recorded below giving the results in detail. The milk was secured with the apparatus used in study of the gas-content of milk without exposure to air.

Table XXV.

(Does aëration influence the germicidal action of milk?)

No. of micro-organism	I		II		III	
After milking	Aërobic	Anaërobic	Aërobic	Anaërobic	Aërobic	Anaërobic
After milking	2000	2000	3290	3290	3120	3120
3 hrs. after milking	520	680	2580	2080	1700	1440
6 „ „ „	790	730	1160	1430	1560	1310
9 „ „ „	610	850	1190	1270	1670	1210

No. of micro-organism	IV		V		VI	
After milking	Aërobic	Anaërobic	Aërobic	Anaërobic	Aërobic	Anaërobic
After milking	3090	3090	12 348	12 348	11 582	11 582
3 hrs. after milking	620	920	8 801	509	8 070	10 030
6 „ „ „	240	1090	3 320	408	4 840	9 660
9 „ „ „	720	1160	3 314	331	4 490	4 030

There is only one conclusion to be drawn from the above tests, although there are some results which do not fully accord: There is no difference existing between the germicidal action of unexposed milk and milk exposed to the air. Thus as far as the germicidal action is concerned we cannot consider that aëration favors it.

XXX. Does Aëration as Practiced Reduce the Number of Bacteria while the Milk is Flowing over the Aërator?

We were not able to employ a common milk aërator for this work but resorted to the use of glass, tin and copper sheets which we used for aërating purposes when studying the action of aëration upon the gas-content. The same inclined surfaces were employed and aëration was carried out in exactly the same way. The number of germs before aëration was estimated; the milk was run over the inclined sterile surfaces of the materials mentioned and then the number of germs estimated again. In the following table will be found detailed results.

(See table XXV pag. 497.)

If this method of aëration can be regarded as one simulating the methods in vogue we are forced to conclude that the simple act of aëration does not reduce the number of micro-organisms in the milk and that if any reduction occurs it must be due to some indirect action which aëration must have upon the milk.

Table XXVI.
(Does aëration as practiced reduce the number of bacteria simply while the milk is flowing over the aërator?)

Date	Jan. 3rd.	Jan. 4th.
Aërating surface	Glass	Glass
Extent of surface	6ft. × $1^1/_2$ inch	6 ft. × $1^1/_2$ inch
Amount of milk aërated	1 l per hour	1 l per hour
No. of bacteria in unaërated milk	2860 [1]	3630
No. of bacteria in aërated milk	2750	3710

Jan. 6th.	Jan. 7th.	Jan. 8th.	Jan. 9th.
Glass	Tin	Tin	Copper
6ft. × $1^1/_2$ inch	6ft. × $1^1/_2$ inch	6ft. × $1^1/_2$ inch	6ft. × $1^1/_2$ inch
1 l. per hour	1 l. per hour	1 l. per hour	1 l. per hour
8410	2810	3100	2750
9590	2600	3310	3800

A review immediately brings before us striking evidence that underlying aëration of milk are to be found indisputable data fundamentally important which may lead us to definite conclusions. In the determination of the gas-content of milk, the rapid decrease of carbon dioxide and the increase of oxygen content ad once demonstrates that there is a considerable change in the gases of milk through aëration. There is to be no sanitary significance attached to this interchange of gases per se but the fact that such a striking change is taking place is of sufficient weight to assist in the solution of pertinent problems.

We have not positively shown that these gases which have been subjected to study are in loose combination or free but since the carbon dioxide runs down rapidly to a certain percentage where its liberation from the milk becomes quite difficult and since the percentage of oxygen may be increased above the content of air, there does seem to be some evidence favoring the idea that there is a combination rather than the existence of the gases in the free condition, yet small amounts of carbon dioxide are with difficulty removed from distilled water and when such salts as sodium carbonate, sodium hydrogen phosphate, et cetera, are in solution this difficulty is greatly increased. Furthermore, when and attempt is made to simulate the effects of carbon dioxide in milk by the use of free carbon dioxide there exists a marked similarity so far as the growth of the germs is concerned, but just as soon as we begin to study the carbon dioxide effects upon the indicator we find that the carbon dioxide which we obtain does not act the same as the carbon dioxide as we add it in the free state. However it should be remembered that the solubility of carbon dioxide in water is practically 100 % while the most obtained from milk is not above 10 % by volume. It would be unsafe, therefore, to

1) The number of bacteria found in 1 ccm.

draw a positive conclusion from the facts we have regarding the condition of carbon dioxide in milk or the condition of oxygen — our knowledge must remain as it is: but the weight of evidence does not favor an apparently loose combination, because it may be accounted for by the solubility of the gas, and thus must at first follow a rapid reduction of carbon dioxide in the milk when exposed, in an effort to establish equilibrium.

The increase of oxygen during the milking process also must have considerable influence upon our judgement relevant to the common methods of handling milk in the stable. If carbon dioxide is eliminated so rapidly and oxygen increases, there must of course be a rapid interchange of gases going on during the milking process while the milk is more or less agitated by the passage of the streams of milk from the teats of the cow to the surface of the milk in the pail, and to the impinging of the streams against the surface of the milk in the pail causing a churning effect. Now if this interchange takes place as is indicatet by the analyses over and over again, it follows that if any obnoxious gases exist in the stable they must necessarily invade the milk as does the oxygen; by this means the milk is rendered unwholesome to a greater or less degree by the gases existing in the stable. Should the operations which are commonly in vogue at the present time be carried out and the milk disturbed by pouring it through a strainer into a milk can or even over an aërator or cooler in the stable air it is easy to understand how the gases of the milk and the gases of the air find an equilibrium. This of course means that the gases in the milk and the gases of the air must substitute each other to a great extent. The practice of milking in filthy stables containing filthy odors is therefore reprehensible.

There may be an elimination of taints wich originated by means of physiological processes in the cow or emanate from bacterial fermentation processes. It has been an old and common belief and is still that animal odors and taints are to a large extent removed by aëration. This is evidently true. In our experience we have so removed the animal odor from the milk that no odors were perceptible even when warmed. Knowing that the gas-content of milk and the air gases interchange freely when milk is agitated or spread out in a very thin film the explanation of this removal of animal odors and taints appeals to our understanding, and very naturally, in the light of preceding studies. However the methods employed for aëration must be effective to accomplish satisfactory results.

The interchange of gases going on in a closed can of milk our which is a small air space as is us usually the case should be looked upon as resulting from fermentation processes rather than from physical or chemical interchange of gases. Blyth has satisfactorially shown that milk undergoing fermentation soon reaches the point where oxygen completely disappears and carbon dioxide is practically the only gas present. In connection with antiseptics in fresh milk where all fermentation has been arrested

it is true the oxygen greatly diminishes in amount, but it requires some time to bring about a marked diminution of this gas, consequently the interchange of gases is due to a slow oxidation process such as is well known to exist in a great many complex organic compounds; what oxygen may be present in the milk itself may be utilized by numerous possible bacterial changes. It is apparently true that if milk remains quiet that the oxidation which takes place through contact with the oxygen in the milk is probably as slow as is known to be the case where oxygen permeates agar or gelatin and influences the life zones of the media. We should not expect thas where milk is standing quiet that the oxygen diminution would be very noticeable for several hours even though fermentation be held in check. The production of carbon dioxide in large amounts by bacteria, the absorption of oxygen of the consumption of oxygen by bacteria have long been known.

Carbon dioxide does not exert any effect upon the germicidal action of fresh milk, since it is found that the germicidal action of milk confined without exposure to the air and that which is exposed to the air are practically the same; that is, the ratio of reduction of the number of germs does not differ in the two cases sufficiently to warrant us in drawing any other conclusion.

When the number of bacteria is estimated before and after the aëration of milk there is no appreciable reduction, consequently, we cannot look upon aëration as directly influencing the number of bacteria.

It is true that in confined milk, germs do not increase as rapidly as in exposed milk but this simply supports the idea that the carbon dioxide or other anaërobic factors exert some influence over the development and increase of bacteria. Without entering into a demonstration of wheter the confined conditions or anaërobic conditions of milk are likely to give rise to obnoxious fermentations we have regarded it more feasible to consider only the well established facts already known concerning aërobic and anaërobic conditions as suited to the productions of proper fermentations. Under aërobic conditions usually harmless fermentations take place; that is, fermentations confined to the ternary compounds consisting simply of carbon, hydrogen and oxygen occur, and in the destruction of these ternary compounds as is effected through these fermentations, oxygen must be present in sufficient quantities to yield the desired results. This is not always true, however, but may be regarded as generally true. Of milk fermentations, the ordinary lactic acid fermentation, the fermentation sought, is accelerated by the presence of oxygen, and if such fermentative processes may be facilitated by its action, it follows that harmful fermentations which are capable of development may be held in check. Usually where toxic or harmful effects are obtained the nitrogen molecule is acted upon and broken down. During this destruction toxic substances are formed thus producing the poisonous symptoms when the food is consumed. If a review is made of the various cases of poisoning from food, the greater

number will be found to result from anaërobic or practically anaërobic nitrogenous decompositions. Brieger has shown that a trace of oxygen is necessary to the production of prisonous ptomains, but when there is a bountiful supply of oxygen no toxic ptomains are produced. Now, if it is true that the ternary compounds may be decomposed more readily in the presence of oxygen and that by this process the decomposition of the proteids may be held in check the value of substituting oxygen for carbon dioxide is plain. In the case of milk, lactic acid is depended upon to hold in check other fermentations. Repeating, lactic acid fermentation is usually facilitated by the presence of oxygen, consequently an actual supply of oxygen is required to control the possible detrimental fermentations. Should the milk be practically free from bacteria the need for this control is not so apparently great as where considerable filth has entered the milk, making the possible number of harmful fermentations much greater.

Conclusions.

1) Milk undergoes aëration when exposed to air from the time it leaves the milk-duct of the cow until it is consumed or made into milk-products.

2) This aëration is demonstrated by the reduction in the amount of carbon dioxide and the increase in the amount of oxygen.

3) It has been shown that aërating methods which increase the surface of the milk exposed, facilitate aëration greatly.

4) Below a certain per cent, the elimination af carbon dioxide becomes very difficult.

5) By this inter change of gases between air and milk, there is a great opportunity offered for the absorption of noxious gases by the milk, unless the inter change takes place in absolutely pure air.

6) Agitation of milk favors the inter change of gases, because of the increased surface exposure.

7) Odors and taints resulting from aromatic foods, physiological processes and disease processes may be greatly reduced permanently.

8) Odors and taints resulting from bacterial fermentations may be greatly reduced but they will return upon the further development of bacteria.

9) The oxidation of milk is a slow process in the presence of antiseptics.

10) Where the oxygen disappears rapidly and carbon dioxide is formed in a confined air space over milk, this change is evidently due to bacterial activities.

11) Closing milk-cans from the air consequently reduces the amount of oxygen supply, therefore must change the conditions of germ-life.

12) Aëration does not change the germicidal action of milk.

13) Aëration does not reduce the number of bacteria.

14) Directly confined milk does not ferment more readily than aërated milk.

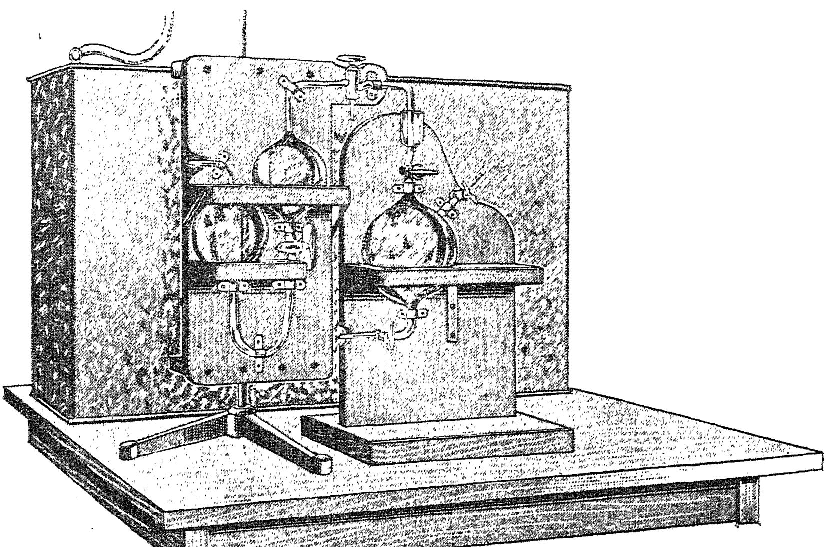
15) Aëration does influence the amount of oxygen supply to the bacteria present.

16) Mere traces of oxygen favors the development of toxic products by bacteria (Brieger).

17) A plentiful supply of oxygen causes bacteria to produce non-toxic substances (Brieger).

18) The fermentations of milk are therefore influenced by aëration, favoring the production of non-toxic substances.

In closing this article it is a great pleasure to state that I have had the privilege of freely consulting Prof. F. G. Novy as this work has progressed. I am also grateful to Prof. M. Gomberg for many valuable suggestions and to Mr. Alfred White for his useful hints in gas analysis.



Description of Apparatus see pag. 372.

Versuche über die Verwesung pflanzlicher Stoffe.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Privatdocent Dr. **Oskar Bail**, Assistenten des Institutes[1]).

Einer der wichtigsten Zersetzungsvorgänge, denen abgestorbenes, organisches Material auf und in dem Boden unterliegt, ist die Ver-

1) Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Litteratur in Böhmen.

wesung. Man versteht darunter die bei Luftzutritt stattfindende Umwandlung bis zu den hauptsächlichen Endprodukten, Kohlensäure, Wasser, Ammoniak (beziehungsweise Salpetersäure) und Salzen.

Ihr schließliches Resultat ist das nahezu vollständige Verschwinden der organischen Stoffe, deren Umwandelungsprodukte entweder direkt verflüchtigt oder nach mehr oder weniger langem Aufenthalt im Boden als wertvolle Nährstoffe von Pflanzenwurzeln aufgenommen werden. Die Bedeutung dieses Vorganges ergiebt sich für die Landwirtschaft wie für die Hygiene von selbst. Hier erreicht sie vor allem die Aufschließung und Verwertung organischer Düngemittel; dort ist sie eine der wesentlichsten Faktoren der Selbstreinigung des Bodens, erklärt aber auch gewisse, sonst bedeutungsvolle Erscheinungen, wie z. B. den Kohlensäuregehalt der Grundluft.

Arbeitet die Verwesung auf Beseitigung der organischen Stoffe hin, so führt im Gegensatze dazu die Fäulnis bei beschränktem Luftzutritt zu einer Anhäufung derselben, nach einer mehr oder weniger tiefgreifenden Veränderung. Gewisse Endprodukte, Kohlensäure, Wasser, Ammoniak, treten auch hier auf; sie werden im allgemeinen aber in viel geringerer Menge gebildet. Das Entstehen niederer Oxydationsstufen des Stickstoffes oder die Entbindung desselben in elementarer Form bedeutet für die Landwirtschaft einen direkten Verlust, die Anhäufung von halbzersetzten, weiterhin nur schwer veränderlichen organischen Massen von zum großen Teil noch wenig bekannter Zusammensetzung verschlechtert den Boden, verhindert seine Entlüftung, erhöht seinen Wassergehalt, macht schließlich eine Selbstreinigung fast unmöglich.

Da organisches Material in großer Menge in den Boden gelangen muß, so liegt es im eigensten Interesse der Hygiene wie der Landwirtschaft, die Möglichkeit der Verwesung desselben zu unterstützen oder sie erst zu schaffen, Fäulnis hintanzuhalten oder zu beseitigen. Freilich ist der Unterschied zwischen Verwesung und Fäulnis wohl nicht immer ganz scharf zu ziehen.

Ueber die äußeren Bedingungen der Verwesung sind wir verhältnismäßig sehr gut unterrichtet und die planmäßigen Untersuchungen Wollny's[1]) haben diesen Gegenstand bis zu einem gewissen Abschlusse gebracht.

Sehr viel weniger ist aber über die ursächlichen Verhältnisse bekannt. Daß die Verwesung der Hauptsache nach durch biologische Faktoren bewirkt wird, bedarf freilich keines Beweises mehr. Die Feststellung, daß gewisse, leicht nachweisbare Veränderungen der organischen Substanz (CO_2-Bildung, Nitrifikation, NH_3-Bildung), welche während oder nach der Verwesung auftreten, ausbleiben, sobald die Organismenthätigkeit durch Chloroform (Schlösing und Müntz), Schwefelkohlenstoff (Warington), Sublimat und andere Antiseptika (Wollny) oder Hitze (Schlösing

1) Zusammengefaßt in Wollny, Die Zersetzung der organischen Stoffe und die Humusbildungen. Heidelberg 1897. Daselbst die Litteratur.

und Müntz, Fodor, Wollny u. A.) ausgeschaltet wird, hat diesen Beweis geliefert.

Ueber die Art der die Verwesung als zusammenhängenden Zersetzungsprozeß veranlassenden Organismen, über die von vornherein wahrscheinliche Aufeinanderfolge einer Flora auf die andere, über die Bedingungen, unter denen dieser Florenwechsel eintritt, ist so gut wie nichts bekannt. Allerdings sind gewisse direkte oder indirekte Verwesungserscheinungen genau studiert. Dazu gehört vor allem die Nitrifikation, welche in den Arbeiten von Schlösing und Müntz, Adametz, Heraeus, Hueppe, Warington, P. F. und G. C. Franklands, Winogradsky, Godlewsky, Omelianski, Beijerinck u. A. mit großer Sorgfalt behandelt wurde. Mehr oder minder genau wurden dann gewisse bei der Verwesung auftretende Gärungen, z. B. die des Harnstoffs, der Hippursäure u. dgl. studiert. Die Ammoniakbildung aus organischen Stoffen fand viele Bearbeiter, Schlösing d. Ae., Marchal, Müntz und Coudon, Guyon, Severin u. A. Soweit es sich dabei nicht um mehr chemische Untersuchungen handelte, gingen die meisten Beobachter so vor, daß sie gewisse Mikroorganismen aus Boden, Mist u. dgl. isolierten und dann in verschiedenen, künstlichen und natürlichen Nährsubstraten die gesetzten chemischen Veränderungen studierten. Das bevorzugte Material dieser Studien bildete der Stallmist, mit dem sich namentlich die schönen Untersuchungen Severin's[1]) befaßten. Die meist weitzerstreuten litterarischen Details dieser und ähnlicher Bemühungen zusammenzustellen, hat für die folgenden Untersuchungen wenig Zweck.

Diese gingen von der Voraussetzung aus, daß bei der Verwesung organischen Materiales eine Reihe metabiotischer Prozesse sich ablösen müssen, und es erschien nicht aussichtslos, die jedesmal sich entwickelnde Flora bestimmen und ihr eine bestimmte Veränderung des Substrates zuschreiben zu können. Tierisches, eiweißreiches Material erwies sich in Vorversuchen als wenig zu einer Orientierung geeignet. Denn in diesem entwickelt sich binnen kürzester Zeit eine so enorme Menge, oft verflüssigenden Arten angehörender Individuen, daß eine quantitative Abschätzung, auf die hier viel ankommt, sehr erschwert ist. Viel besser sind pflanzliche Stoffe zu verwenden. Von den mit solchem, meist im Freien angestellten Versuchen, zeigten frische Rhabarberblätter am raschesten charakteristische, leicht wiederzuerkennende Veränderungen. Sie wurden daher als Versuchsobjekt gewählt. Weit langsamer waren sichtliche Zersetzungserscheinungen bei Versuchen mit Wurzeln von Anthriscus silvestris, Stengelstücken von Heracleum (frisch und herbstlich abgestorben), frischen und abgestorbenen Buchenblättern.

Die an Rheum-Blättern während der Verwesung zu beobachtenden Veränderungen werden im Folgenden vielfach beschrieben werden.

1) Severin, Centralblatt für Bakteriologie. 1895, 1897, 1901. Die ebenfalls oft studierte Denitrifikation gehört in den Kreis der Fäulniserscheinungen.

Es erwies sich freilich als unthunlich, den Prozeß bis ans Ende zu verfolgen, so daß die Versuche meist nach Erreichung eines gewissen Stadiums abgebrochen wurden. Dieses ist hauptsächlich charakterisiert durch die Umwandelung der bisher stark sauren Reaktion der Blätter in eine alkalische, womit eine sichtliche Verflüssigung, ein förmlicher Schwund der Pflanzenmasse einhergeht. Eine solche Veränderung ist meist nach ungefähr 3—4 Wochen erreicht und sie bedeutet sicher einen sehr bedeutungsvollen Abschnitt des ganzen Zersetzungsvorganges.

Ueber die Schwierigkeiten, die auch da noch zu überwinden sind, sowie über die Anordnung der Versuche wurde bereits in einer Vorarbeit [1]) berichtet, auf welche verwiesen sein möge.

Laboratoriumsversuche.

Das zur weiteren Untersuchung bestimmte Ausgangsmaterial wurde in der Regel so gewonnen, daß frisch abgebrochene Rhabarberblätter, frei oder etwas zusammengewickelt, an feuchten, von direkter Sonne geschützten Stellen sich selbst überlassen blieben, oder daß abgebrochene Blätter einfach unter der zugehörigen Rhabarberstaude liegen gelassen wurden. Diese nach einiger Zeit entnommenen Proben dienten dann zur Impfung sterilisierter Blätter im Laboratorium. Es erwies sich bald als unmöglich, durch eingehende mikroskopische und kulturelle Untersuchung der Ausgangsproben zu irgend einem sicheren Schlusse zu gelangen. Eine eingehende quantitative Bestimmung der gefundenen Organismen wird regelmäßig durch zahlreiche verflüssigende Bakterien illusorisch gemacht, die Artenzahl ist meist so groß, daß eine Ueberimpfung jedes reingezüchteten Organismus auf sterile Blätter einen ganz unverhältnismäßigen Aufwand an Zeit und Mühe erfordert, der schlecht oder gar nicht gelohnt wird; Unsicherheit und Arbeit werden noch größer dadurch, daß man von vornherein in keiner Weise bestimmen kann, welche Symbiosen etwa von Bedeutung sind. Als Beispiel dafür möge dienen, daß in einem derartigen, sofort zu besprechenden Versuche, die sicher so bedeutungsvollen Sproßpilze gar nicht in den eigentlichen Versuch einbezogen wurden; sie fanden sich zwar auf den mit dem Ausgangsmaterial angelegten Plattenkulturen, aber entsprechend dem vorgeschrittenen Verwesungsstadium (s. unten) in so geringer Anzahl, daß sie als gelegentliche, nicht zum eigentlichen Zersetzungsprozesse gehörende Beimengungen betrachtet wurden.

Die Kenntnis wenigstens der ersten, aufeinanderfolgenden Verwesungsfloren wurde erst dadurch erlangt, daß eine mit natürlich verwesenden Blättern geimpfte Probe sterilisierter Pflanzen fortlaufend untersucht und von Zeit zu Zeit auf neue Blätter überimpft wurde. Die anfänglich so reiche und verwirrende Organismenzahl verminderte sich dadurch in überraschender Weise und ermöglichte einen Einblick wenigstens in die ersten Stadien der Verwesung frischer Rhabarberteile.

1) Centralblatt für Bakteriologie. II. Abt. Bd. VIII. p. 567.

Der am weitesten durchgeführte Versuch, der diese Verhältnisse klarlegt, sei hier mitgeteilt.

Als Impfmaterial dienten Rhabarberblätter, welche am 17. Aug. abgebrochen, lose zusammengelegt und an einem vor direktem Sonnenlicht geschützten Orte unter Sträuchern sich selbst überlassen waren. Bei der Entnahme fand sich eine fast schwarze, ganz weiche Masse, in der nur gröbere Blattnerven noch kenntlich waren. Am 2. September wurde damit ein U-Rohr, enthaltend ca. 30 g frische, sterilisierte Rheum-Blätter, geimpft. Die danach einsetzende CO_2-Produktion ergab für den Tag im wöchentlichen Durchschnitt:

1. Woche	19,84	ccm.	CO_2	(Maximum	21,2,	Minimum	16,1	ccm)
2. „	13,09	„	„	(„	16,2,	„	11,6	„)
3. „	10,03	„	„	(„	12,3,	„	8,1	„)
4. „	5,66	„	„	(„	8,5,	„	3,6	„)
5. „	3,34	„	„	(„	4,6,	„	2,5	„)
6. „	1,97	„	„	(„	2,4,	„	1,3	„)
7. „	1,23	„	„	(„	2,0,	„	0,6	„)
8. „	0,94	„	„	(„	1,4,	„	0	„)

Aus dem Impfmaterial wurden 12 Arten von Spaltpilzen, 2 Schimmelpilze und eine Hefe isoliert. Versuche, die Wirkung namentlich der Spaltpilze auf sterile Rheum-Blätter festzustellen, mögen übergangen sein: meist wuchsen sie unter solchen Bedingungen überhaupt nicht oder nur ganz kümmerlich. Im Verlaufe des Versuches mehrmals, aber in zu großen Zwischenräumen vorgenommene Untersuchungen lieferten auch wenig brauchbare Resultate. Die geimpften Blätter selbst zeigten schon nach kurzer Zeit starkes Zusammensinken, ihre durch das Sterilisieren ohnehin dunkler gewordene Farbe wurde fast schwarz, die im gebogenen Teile des U-Rohres angesammelte Flüssigkeit vermehrte sich und hatte am 30. Tage alkalische Reaktion angenommen. Um diese Zeit waren die im gebogenen Teil des U-Rohres gewesenen Blätter fast ganz verschwunden, die in den geraden Teilen befindlichen ganz zusammengesunken, dunkel gefärbt, weich. Im kulturellen Befunde war das fast völlige Verschwinden der vorher reichlich vorhandenen Schimmelpilze und das reichliche Auftreten sporenbildender, die Gelatine verflüssigender Arten bemerkenswert.

(Siehe Versuchstabelle S. 506.)

Mit Ausnahme des abnorm verlaufenden Versuches No. 9a ergab sich in allen anderen Versuchsserien eine weitgehende Uebereinstimmung, namentlich in Bezug auf die bakteriologischen Befunde, sowohl was die gefundenen Arten von Mikroorganismen, als auch die Reihenfolge ihres Auftretens betrifft. Die große Menge der im ersten Versuche (Rh. I) aufgefundenen Lebewesen reduzierte sich sehr rasch, so daß schließlich nur 2, in manchen Versuchen 3 Bakterien, Sproßpilze und ein Schimmelpilz übrig blieben, welche das hauptsächlichste Stadium der Verwesung frischer Rheum-Blätter, gekennzeichnet durch Zusammensinken, Unkenntlichwerden und teilweise Verflüssigung, bei Alkalischwerden der Reaktion, hervorbrachten.

Von diesem Versuche leitete sich nun folgende Reihe ab:

Rh. 1 vom 2. September—28. Oktober.

Versuch No. 9: 25 g steril. Rheumblätter, geimpft aus Rh. 1 am 11. September.	Rh. a: Cylinder mit 100 g steril. Rheumblätter, geimpft aus Rh. 1 am 10. Oktober.	Rh. 1b: Cylinder mit 50 g steril. Rheumblätter, geimpft am 28. Oktober aus Rh. 1, zu einer Zeit, wo die CO_2-Produktion bereits aufgehört hatte.
	Rh. 3: Cylinder mit 100 g steril. Rheumblätter, geimpft aus Rh. a am 31. Oktober.	
Versuch No. 9a: 50 g steril. Rheumblätter geimpft aus No. 9 am 5. Oktober.	Rh. 4: Cylinder mit 100 g steril. Rheumblätter, geimpft aus Rh. 3 am 5. November.	Rh. 5: Cylinder mit 100 g steril. Rheumblätter, geimpft aus Rh. 1b am 8. November.
	Rh. 6: Cylinder mit 100 g steril. Rheumblätter geimpft aus Rh. 4 am 12. November.	

(Fortsetzung folgt.)

Referate.

Pfeiffer, Th. (Ref.) und **Lemmermann, O.** unter Mitwirkung von **Riecke, R.** und **Bloch, C.**, Der Wirkungswert des Stallmiststickstoffs und seine analytische Bestimmung. (Mitteilungen d. landw. Inst. zu Breslau. 1901. p. 189 ff.).

Die Verff. versuchten es, an die früheren Arbeiten anschließend, die im Boden bei Vegetationsversuchen für die Pflanzen löslich werdenden bezw. löslich bleibenden N-Mengen im Stallmiste dadurch analytisch festzustellen, daß sie Analysenproben der fraglichen Mistsorten im Laboratorium einer „Selbstzersetzung“ überließen und alsdann zu ermitteln suchten, welche N-Mengen unter diesen Bedingungen als pflanzenlöslich angesprochen werden können. Es mußte dabei natürlich besonders geprüft werden, ob die sich im Boden abspielenden Zersetzungsvorgänge des Stallmistes annähernd gleichartig verlaufen, und zwar in gleicher Weise wie bei dem im Thermostaten stehenden, feucht gehaltenen Boden, der obendrein hinreichend durchlüftet wurde. In Vegetationsgefäßen mit leichtem wie auch mit schwerem Boden wurden 12 verschiedene Mistsorten näher geprüft; außerdem konnten 3 derselben gleichzeitig auf Freilandparzellen mit denselben Bodenarten geprüft werden. Aus den umfangreichen Untersuchungen möge nur erwähnt werden, daß sich leider noch keine vollständig ausreichende Methode hat finden lassen, um auf analytischem Wege eine Wertschätzung des Stallmiststickstoffs vornehmen zu können. Die Möglichkeit der Auffindung einer ausreichenden Methode ist sogar sehr zweifelhaft

geworden, da die Stallmistwirkung unter verschiedenen Bedingungen auf schweren und leichten Böden in Vegetationsgefäßen und Freilandparzellen weit größere Unterschiede erkennen läßt, als dies von den Verff. zum Teil schon früher angenommen worden war. Sicherlich spielen dabei eine große Zahl der verschiedensten Prozesse eine Rolle, die sich indessen nicht so ohne weiteres in einem möglichst umfassenden Laboratoriumsversuche nachahmen lassen, und bald in der einen Richtung, bald in der anderen in verstärktem Maße vor sich gehen. Gleichwohl wird an einer Reihe von Versuchen gezeigt, daß zwischen dem Wirkungswerte eines Stallmistes und seinem Gehalte an pepsinlöslichem N nach der Selbstzersetzung eine gewisse Proportionalität obwaltet. Der Gesamt-N kann von den Pflanzen um so besser verwertet werden, je mehr von demselben bei der Selbstzersetzung pepsinlöslich wird bezw. pepsinlöslich bleibt. Auch konnte von den Verff. die spezifische Wirkung bezw. Nichtwirkung einzelner verwandter Stallmistsorten sehr wohl erklärt werden, wenn die Bestimmung des pepsinlöslichen N nach der Selbstzersetzung in den Kreis ihrer Betrachtungen gezogen wurde.

Nach den Verff. beruht keineswegs jede durch Zufuhr von organischer Substanz beobachtete Schädigung der N-Ernte einzig und allein auf Denitrifikation; bei der Selbstzersetzung findet im Stallmiste meist eine Abnahme, zuweilen aber auch eine Zunahme des pepsinlöslichen N statt: dies kann nach den Verff. nur so erklärt werden, daß einmal die Aufschließung schwer löslicher, bezw. ein andermal die Festlegung leicht löslicher N-Verbindungen in den verschiedenen Mistarten in ganz verschiedener Weise erfolgt. Die Verff. heben hervor, daß diese Vorgänge sich im Boden in ganz ähnlicher Richtung abspielen und daß man darin die Hauptursache für die oft ganz verschiedenartige Wirkung der Stallmiste zu suchen hat. Die Denitrifikationsthorie hat nach den Untersuchungen der Verff. keineswegs die hohe Bedeutung, die man ihr vielfach beizumessen geneigt ist. Es müßte sonst die Salpeterzersetzung immer um so stärker verlaufen, je mehr N „festgelegt" wird; und es müßte notwendigerweise zwischen dem Gehalte der Miste an pepsinlöslichem N nach der Selbstzersetzung und der Entbindung von elementarem N sich ein Abhängigkeitsverhältnis in der eben erwähnten Richtung ergeben. Heinze (Halle a. S.).

Feinberg, L., Ueber den Erreger der Kohlhernie [Plasmodiophora Brassicae Woronin]. (Ber. d. d. Bot. Ges. Bd. XIX. p. 533. 1901.)

Verf. beobachtete an den Amöben der Plasmodiophora, daß der Kern aus einem Kernkörperchen und einer das Kernkörperchen umgebenden hellen, ungefärbten Zone besteht, die ihrerseits scharf vom Plasma abgesetzt ist. Bei allen vom Verf. bisher untersuchten einzelligen tierischen Organismen wurde dieselbe Kernform gefunden. Küster (Halle a. S.).

Magnus, P., Mycel und Aufbau des Fruchtkörpers eines neuen Leptothyrium. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1901. p. 447. Mit Taf. XXIII.)

Leptothyrium Bornmülleri n. sp. kommt an Calligonum comosum in Turkmenien vor. Die Fruchtkörper stehen an den dünnen Zweigen in unregelmäßigen Gruppen zusammen. Das Mycel befindet sich im Pallisadenparenchym und geht bis zur Endodermis hinein. In diese Endodermiszellen bohrt sich das Pilzmycel ein und erfüllt mit seinem Geflecht ihr Lumen. Im Pallisadenparenchym und im subepidermalen Parenchym wachsen die Hyphen nur intercellular, indem sie die Zellen auf mannigfache Art in ihrer Lagerung stören. Zwischen die Epidermiszellen wächst das Mycel dann nach außen und bildet zwischen der oberen Wandung der Epidermiszellen und der abgehobenen Cuticula die Fruchtkörper.

Die Fruchtkörper bestehen aus einem Hymenium von niedrigen Sterigmen, die die einzelligen Sporen abschnüren, und einer einschichtigen Decke, die aus Hyphen gebildet wird, welche in die Cuticula eingedrungen sind.

Die Tafel giebt die anatomischen Details wieder.

Lindau (Berlin).

Wislicenus, H., Ueber eine Waldluftuntersuchung in den sächsischen Staatsforstrevieren und die Rauchgefahr im allgemeinen. Freiberg i. S. (Craz u. Gerlach) 1901.

Bekanntlich wird durch den Rauch von industriellen Anlagen der benachbarten Vegetation häufig schwerer Schaden zugefügt. Der im Rauche wirksame Stoff ist in erster Linie die schweflige Säure. Wird ein Baum von einer großen Menge von sauren Gasen getroffen, so entstehen akute, ohne weiteres sichtbare Schäden, wenn aber die Menge der Säure nur gering ist, so können Jahre vergehen, ehe man eine Schädigung wahrnimmt. Und doch ist sie vorhanden. Man nennt diese Schäden unsichtbare oder chronische. Sie summieren sich trotz ihrer scheinbaren Geringfügigkeit für einen größeren Waldbezirk zu ganz gewaltigen Verlusten an Holzzuwachs.

Die schweflige Säure muß also in der Luft vorhanden sein, wenn sie sich auch analytisch wegen ihrer äußerst geringen Menge nicht nachweisen läßt. Um für die sächsischen Staatsforsten der Industriegegend den Beweis zu führen, daß die Luft die gefährliche Säure enthält, wurde die Ost'sche Methode vom Verf. in Anwendung gebracht. Diese besteht darin, daß man Baumwollenlappen, die mit Bariumhydrat getränkt sind, monatelang der Atmosphäre aussetzt. Chemisch läßt sich dann nachweisen, wieviel Schwefelsäure in dem Baumwollenzeug sitzt. Wenn auch diese Methode keine absoluten Zahlen giebt, so gewährt sie doch einen Vergleich zwischen dem Gehalt der Luft an schwefliger Säure an verschiedenen Orten. Nach den Ergebnissen der chemischen Untersuchung kommt dann Verf. zu einer Einteilung der sächsischen Staatsforsten nach der ihnen durch Säure drohenden Gefahr. 21 Reviere

erscheinen normal, während 82 durch höheren Säuregehalt der Luft in Gefahr schweben. Gleichzeitig läßt sich auch aus der Berußung der ausgehängten Lappen ein Schluß auf den Zustand der Luft machen. Da ergiebt sich denn auch in vielen Revieren eine hochgradige Belastung der Atmosphäre mit Ruß.

Verf. geht dann näher ein auf die Bestandteile des Rauches der verschiedenen Industriezweige und giebt eine Einteilung der Raucharten nach Zusammensetzung und Gefährlichkeit. Auf diesen mehr den Chemiker interessierenden Abschnitt kann hier nicht näher eingegangen werden. Ausführlicher hat Verf. dasselbe Thema in der Zeitschrift für angewandte Chemie 1901 behandelt.

Auch der Steinkohlenrauch der Haushaltungsessen schädigt auf die Dauer die Vegetation, doch schützt schon ein oder zwei Kilometer Entfernung bei kleineren Ortschaften die Fichte vollständig. Bei Fabrikstädten liegt allerdings die Sache viel ungünstiger, weil hier viel mehr Rauch produziert wird. Der Wald in unmittelbarster Nähe von Hüttenwerken, Ringziegelöfen u. a. ist natürlich am meisten gefährdet. Trotzdem aber kommt Verf. zu dem Schlusse, daß trotz der großen Zahl der Rauchquellen die Waldluftverhältnisse noch nicht allzu ungünstig genannt werden können.

Lindau (Berlin).

Sammlungen.

Vestergren, Tycho, Micromycetes rariores selecti adjuvantibus Dr. A. G. Eliasson, Rob. E. Fries, Dr. P. Hennings, Dr. A. von Jaczewski, Direktor Jos. Em. Kabát, Prof. Dr. G. Lagerheim, Dr. J. I. Lindroth, Prof. Dr. P. Magnus, Med.-Rat Dr. H. Rehm, C. Skottsberg, adjectis fungis a beato C. J. Johanson relictîs. Fasciculus XVI und XVI. Upsala 1901.

In diesen Lieferungen fährt der Herausgeber fort, viele kritische Pilze, namentlich parasitische, herauszugeben. Von den Uredineen seien hervorgehoben das Aecidium Actaeae Opiz auf Actaea erythrocarpa, das zu einer Puccinia auf Poa nemoralis gehört; ferner der auch bei uns häufig auftretende Birkenrost, Melampsoridium betulinum (Pers.) Kleb., auf der arctischen Betula nana in Jemtland; der auf dem Chrysanthemum indicum auftretende Rost, Puccinia Chrysanthemi Roze aus dem Berliner botanischen Garten; das Aecidium auf Thalictrum flavum, das zur Puccinia persistens Plowr. auf Triticum repens gehört, aus Upsala; die Puccinia Saxifragae Schlecht. auf Saxifraga nivalis aus Finnland; der als neue Art unterschiedene Uromyces Kabatianus auf Geranium pyrenaicum aus Prag.

Von Peronosporeen sind ausgegeben Bremia Lactucae Regel, die eine Krankheit der Artischocken bei Paris bildete, sowie die interessante Plasmopara obducens in den Keimblättern der Impatiens noli tangere L.

Ich nenne ferner die neuen Arten Tracya Hydrocharidis Lagerh. auf Hydrocharis morsus ranae und Aporia Hyperici Vestergr., die in Originalexemplaren ausgegeben sind.

Von Ascomyceten sind hervorzuheben die Metasphaeria ocellata (Niessl) Sacc. von der Insel Abro im baltischen Rußland und Metasphaeria macrotheca Rostr. aus Lulea-Lappland, das schöne Cenangium populneum (Pers.) Rehm, die Hypocrea Richardsoni Berk. & Mont. aus Smolensk, Ophiodotis Schumanniana P. Henn. aus Togo, die neue Ophiognomonia lapponica Vestergr. aus Lulea-Lappland, die aus Nordamerika zuerst bekannt gewordene Venturia compacta Peck auf Myrtillus uliginosa aus Lulea-Lappland und die afrikanische Xylaria arbuscula Sacc. aus den Warmhäusern des Berliner botanischen Gartens.

Unter den Conidienfruchtformen — den sogenannten Fungi imperfecti — werden uns interessante und neue Formen geboten. Phoma picea (Pers.) Sacc. liegt auf den drei verschiedenen Unterlagen, den Stengeln von Artemisia vulgaris, Rhinanthus crista galli und Heracleum sibiricum vor. Die die Weinbeeren sehr schädigenden Phoma reniformis Viala und Ravaz sind aus Transcaucasien und Phoma uvica Berk. und Curt. aus Bordeaux ausgegeben. Neue Arten sind Septoria Caricis montanae Vesterg. aus den russischen Ostseeprovinzen, Coniothecium Kabatii Bres. auf Ballota nigra aus Böhmen, Botrytis capsularum Bres. und Vesterg. auf den Kapseln der Veronica aquatica aus den russischen Ostseeprovinzen und Fusarium Phormii P. Henn. aus dem Berliner Botanischen Garten.

So bietet diese Sammlung dem Mycologen und dem Pathologen viele interessante Objekte zur Kenntnisnahme dar.

Die Arten sind, wie in allen Fascikeln, zuverlässig und kritisch bestimmt und in guten und charakteristischen Exemplaren ausgegeben.

P. Magnus (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Gabritschewsky, G., Beiträge zu bakteriologischen Untersuchungsmethoden. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXI. Orig. 1902. No. 15. p. 813—816.)

Hill, H. W., „Hanging block" preparation for microscopic observation of developing bacteria. (Science N. S. Vol. XV. 1902. p. 369.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Barker, B. Th. P., On spore formation among the Saccharomycetes. (Journ. of the feder. instit. f. brewing. London. Vol. VIII. 1902. p. 26—75.)

Blanchard, R., Note sur les moustiques de la Réunion. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 20. p. 643—644.)

Bokorny, Th., Verhalten der Aminotetrazotsäure gegen Hefe und andere niedere Organismen. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1902. No. 156. p. 1677.)
Caullery, M. et **Mesnil, F.**, Sur Staurosoma parasiticum Will, Copépode gallicole, parasite d' une Actinie. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 22. p. 1314—1317.)
Dupont, C., Sur les fermentations aérobies du fumier de ferme. (Annal. agronom. 1902. No. 6. p. 289—317.)
Ferguson, M. E., Germination of basidiomycetous spores. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 407.)
Henneguy, L. F., Sur la transformation del' oeuf, la maturation de la fécondation de l' oocyte chez le Distomum hepaticum. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 21. p. 1235—1238.)
Javillier, M., Sur la recherche et la présence de la présure dans les végétaux. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 23. p. 1373—1374.)
King, C. A., Fertilization and some accompanying phenomena in Araiospora pulchra. one of the aquatic Phycomycetes. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 456—457.)
Laveran, A. et **Mesnil, F.**, Sur le mode de multiplication des trypanosomes des poissons. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 24. p. 1405—1409.)
Mazé, P., Recherches sur les modes d'utilisation du carbone ternaire par les végétaux et les microbes. [3. mém.] (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1902. No. 6. p. 433—451.)
Meyer, A., Kurze Mitteilung über die Begeißelung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXI. Orig. 1902. No. 15. p. 737—739.)
Mohr, O., Die technische Gewinnung von Milchsäure. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1902. No. 25. p. 271—272.)
Prowazek, S., Zur Entwickelung der Gregarinen. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902. Heft 2. p. 297—305.)
Trouessart, E., Existence de la parthénogénèse chez le Gammasus auris Leidy, de l'oreille du boeuf domestique. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 23. p. 806—809.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Chabal, H., Filtration par le sable des eaux d'alimentation. Modifications proposées aux règles de Koch. (Rev. d'hygiène et de police sanit. 1902. No. 6. p. 540—568.)
Russell, H. L., Toxicity of water toward pathogenic bacteria and the possible significance of the same in the spontaneous purification of polluted waters. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 364.)

Boden.

Withers, W. A. and **Fraps, G. S.**, Nitrification in different soils. (Journ. of the Amer. chem. soc. 1902. No. 6. p. 528—534.)

Nahrungs- und Genußmittel im Allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Schulte im Hofe, A., Studien über den Röstprozeß der Jute, sowie über die Separierung von Pflanzenfasern durch Fermentation. (Tropenpflanzer. 1902. No. 6. p. 295—302.)

Fleisch.

Stetefeld, R., Die bakteriologische Wirkung der Luftkühlung in Fleischkühlanlagen. (Techn. Gemeindebl. 1902. No. 6. p. 87—88.)

Milch, Molkerei.

Hehner, O. and **Ch. W.**, Fluorides as butter preservatives with observations on their influence on artificial digestion. (Analyst. June 1902. p. 174—179.)
Siegfeld, M., Ueber die Einwirkung milchsaurer Flüssigkeiten auf Kupfer, mit besonderer Berücksichtigung der Sauermilchkäserei. (Milch-Ztg. 1902. No. 26. p. 401—403.)

Bier, Brauerei.

Lintner, C. J., Zur Isolierung der Malzenzyme und über das proteolytische Enzym des Malzes. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1902. No. 24. p. 365—368.)

Wein, Weinbereitung.

Kulisch, P., Ueber die Klärung trüber neuer Weine, insbesondere durch Schönung oder durch Filtrieren. (Weinbau u. Weinhandel. 1902. No. 24. p. 253—254.)

Rosenstiehl, A., Sur le bouquet des vins obtenus par la fermentation des moûts de raisin stériles. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 23. p. 1378—1380.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Berger, Versuche zur Bekämpfung der Kiefernschütte. (Tharander forstl. Jahrb. Bd. LII. 1902. 1. Hälfte. p. 157—160.)

Guillon, J. M. et **Perrier de la Bathie, L.**, Les criquets dans les Charentes. (Rev. de viticult. 1902. No. 448. p. 61—64.)

Kaserer, H., Bekämpfung der Weinblattmilbe. (Weinlaube. 1902. No. 27. p. 313—314.)

Noel, P., Les ravages du blé. L'alucite et la fausse-teigne. (Naturaliste. 1902. No. 368. p. 151—152.)

Pettit, R. H., Some insects of the year 1901. (Mich. State agricult. college experim. stat. Entomol. Departm. 1902. Bullet. 200. p. 179—212.)

Woods, A. F., Observations on the mosaic disease of tobacco. (U. S. Departm. of Agricult. Bureau of plant industry. 1902. Bullet. No. 18. 24 pp. gr. 8°. Washington.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr v. Freudenreich in Bern, Privatdocent Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, New-castle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 24. Oktober 1902. No. 14/15.

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Die Fortpflanzung der Hefezelle. I.

[Aus dem Kgl. hygienischen Institut in Posen. Direktor: Herr Medizinalrat Prof. Dr. Wernicke.]

Von Dr. **Albert Hirschbruch.**

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

Der Verbindungssteg zwischen den beiden Kernhälften ist allmählich dünner geworden und in No. 7 sehen wir, wie die Trennung vollständig geworden ist. Es ist das Bestreben des neuen Kernes, sich jetzt, nachdem er zu individueller Existenz gelangt ist, auch wirtschaftlich von der Mutterzelle zu emanzipieren. Manchmal — das Bild, welches sich uns jetzt darbietet, ist nicht

immer das gleiche — bleibt der Mutterkern an der Stelle liegen, wo er gebildet wurde, während der Tochterkern von ihm abrückt und gegen das ihm zunächst gelegene Punctum vegetationis wandert, mitunter stoßen sich die beiden neuen Kerne aber auch mit gleicher Kraft voneinander ab. Während der Tochterkern den Vegetationspunkt der Mutterzelle aufsucht, rückt die Kernhälfte, welche bestimmt ist, in ihr zu verbleiben, an das entgegengesetzte Ende der Zelle und bleibt mitten an deren Schmalseite zunächst liegen. So kommt das Bild zustande, welches uns Fig. 8 bietet. Jetzt wandert der Kern durch den Vegetationspunkt hindurch und zeigt uns dabei, daß zu seinen Eigenschaften eine nicht unerhebliche Elasticität gehört. Indem sich der Kern durch den Sproßpunkt der Zelle hindurch nach außen begiebt, verändert er nämlich seine Form. Er zieht sich lang aus. Der äußere Teil sucht sich annähernd stets die Kugelform zu bewahren, während die Gestalt des noch in der Mutterzelle befindlichen Restes eine längliche Form annimmt, die dadurch zustande kommt, daß der innere Teil sich fest an die Wand der mütterlichen Zelle anlegt. Ich habe diesen inneren Teil einmal die Richtung einnehmen sehen, wie sie uns Fig. 9 zeigt, einmal lag derselbe an der Schmalseite der Zelle. In jedem Falle bildete der Kern in diesem Zustande einen nach außen offenen Winkel von vielleicht 120°. Sobald auch der Kernrest zur Zelle hinaus ist, akkomodiert auch dieser Rest sich der schon vorher bestandenen Kugelform des Kernaußenteiles (Fig. 10). Einen solchen in Auswanderung begriffenen Kern habe ich nur zweimal gesehen, und ich glaube auch diesen Umstand der Kernelasticität zuschreiben zu dürfen. Beim Fixieren des Präparates durch Trocknen wird durch den in der Mutterzelle entstehenden Schrumpfungsdruck, welcher natürlich an der Zellwand am stärksten ist, der auswandernde Kern vollends aus der Zelle hinausgedrückt.

Bei der außerordentlichen Seltenheit von Zeichnung 9 und bei der nicht gerade sehr erheblichen Häufigkeit von Fig. 6 ist es ein sehr glücklicher Umstand, daß auch Andere ähnlich Zustände gesehen haben.

So schreibt Moeller (loco citato): „Wenn bei der Sprossung ein Teil des Kernes in die Tochterzelle eingetreten ist, reißt der Faden zwischen beiden entzwei und die Kernsubstanz rundet sich in beiden Zellen wieder ab, die Kerne bleiben aber noch wandständig einander benachbart liegen. Ob ein sehr häufiges Bild, bei welchem der Kern in zwei wandständige, polarisch gegenüberliegende Hälften auseinander gezogen und durch einen dünnen Faden verbunden ist, als Vorbereitung zur Sprossung und zum Durchtritt in die Tochterzelle, mithin als direkte Kernteilung innerhalb der Mutterzelle zu deuten ist, lasse ich dahingestellt sein."

Dasselbe sagt in noch bestimmterer Form H. Wager[1]) in No. 6 und 7 seiner 11 Thesen, nämlich: „Während der Sprossung

1) Wager, H., The nucleus of the yeast-plant. (Annals of Botany. 1898. p. 499. With plate XXIX and XXX. Referat von Lindau (Berlin) in Centralbl. f. Bakter. Abt. II. Bd. V. p. 225.)

zeigt der Kernapparat keine Kernfiguren bei der Teilung. Letzte muß vielmehr als eine direkte Spaltung in zwei gleiche oder nahezu gleiche Teile betrachtet werden, begleitet von einer Teilung der Chromatinvakuole, des Netzwerkes oder der Körnchen", und in These 7:

„Der Nucleolus teilt sich entweder in dem Isthmus zwischen den sprossenden Zellen oder viel seltener in der Mutterzelle; ein Teil geht in die Tochterzelle über."

Die genannten Autoren haben also Bild 6 gesehen und, was Bild 9 anlangt, geht aus ihren Beschreibungen wenigstens hervor, daß sie das Hinübertreten eines Kernteiles aus der Mutter- in die Tochterzelle beobachtet haben. Im übrigen ist aber die Behauptung, wenigstens bei meinen Kulturen, daß die Kernteilung im Isthmus zwischen den sprossenden Zellen häufiger ist, als in der Mutterzelle, unrichtig. Ich gebe zu, wandständig benachbarte Kerne in sprossenden Zellen gelegentlich gesehen zu haben, die an dem von Moeller und Wager angegebenen Orte sich geteilt haben mögen, aber das ist selten und nie bestand mehr eine Brücke zwischen beiden. Daher kann man dieses Bild auch anders deuten. In den beiden Fällen, wo ich Fig. 9 sah, war außer dem hinüberfließenden Kern noch ein besonderer in der Mutterzelle verbleibender Kern vorhanden. Ferner sah ich — und das ist ein außerordentlich häufiges Bild — nicht bloß den sich in der Mutterzelle teilenden Kern, sondern auch die beiden neu entstandenen Kerne.

Wenn ich nun oben gesagt habe, daß der Tochterkern aus der Zelle herausgedrückt wird, so ist das freilich nicht so zu verstehen, als wäre der emigrierte Kern jetzt gänzlich getrennt von der Zelle, die ihn erzeugt hat, und führte nun ein selbständiges sporoides Dasein. Er ist nach seinem völligen Austritt aus der Mutterzelle mit dieser verbunden durch einen protoplasmatischen, im Präparat blau gefärbten Kanal. Daß dieser Kanal so lange vorhanden ist, bis die Tochterzelle annähernd zur Größe des mütterlichen Organismus herangewachsen ist, daraus möchte ich die Erklärung entnehmen für die Art, wie das Plasma um den jungen Kern herum gebildet wird. Die Umhüllung des Kernes mit Zellprotoplasma ist danach keine Funktion des Kernes allein. Möge ihm immerhin eine Anziehungskraft auf Plasma eigen sein, so scheint der Kern doch außer stande zu sein, schöpferisch den Zellleib aus den Materialien des Nährbodens aufzubauen. Aus der Mutterzelle zieht der Tochterkern das Eiweiß an sich heran und umgiebt sich in immer größerer Menge mit eigenem Protoplasma.

Nun sollte man doch meinen, daß die ältere Zelle immer dürftiger werden müßte. Davon ist aber durchaus nichts zu merken. Ich erkläre diesen Umstand theoretisch folgendermaßen, ohne begreiflicherweise den exakten Beweis dafür erbringen zu können: Das Plasmadefizit im mütterlichen Organismus könnte eine entsprechende Schrumpfung der Zellmembran und Verkleinerung der Zelle zur Folge haben. Die Membran könnte durch zwei verschiedene Kräfte hierzu veranlaßt werden, durch ihre eigene Elasticität und durch die Druckdifferenz im Inneren der Zelle und

außerhalb derselben. Eine merkliche Verkleinerung tritt aber nicht ein. Nun nennen wir den Zustand verminderter Plasmamasse innerhalb nicht verkleinerter Grenzen „Hunger“ und der Zellhunger veranlaßt das Plasma zu vermehrter Assimilation. Die Beziehungen zwischen Zellleib und Kern würden demnach ihren Ausdruck finden etwa in dem Satze: Vom Protoplasma die Plasmabildung, von den Zellkernen die Plasmaverteilung!

Selbstverständlich beteiligt sich an dieser neuen Plasmabildung auch der Leib der Tochterzelle im wachsenden Verhältnis seiner Masse. So wächst die junge Zelle heran, indem sie nach ihren Kräften mitarbeitet an ihrem eigenen Ausbau; einen mütterlichen Zuschuß kann sie aber noch nicht entbehren. Erst wenn die Gesamtplasmamenge in den beiden Zellen im Verhältnis der vitalen Kräfte, d. h. im Verhältnis der Kernattraktion verteilt ist, hat der gemeinsame Haushalt keinen Zweck mehr und wird aufgelöst. Der Sproßakt ist jetzt beendigt (Fig. 10—13).

Im Präparat kann man häufig die getrennten Zellen noch in der Lagerung zu einander sehen, welche die Sprossung bedingt hat. Die Reste des Verbindungskanales werden sofort eingezogen. Ein einziges Mal sah ich an der Tochterzelle, an ihrem Vegetationspunkt, noch einen feinen protoplasmatischen Anhang von etwa $^1/_4$ der Zelllänge. Dieses fädige Gebilde stand schräg zur Längsachse der Zelle und verlieh derselben das Aussehen einer geschwänzten Zelle. Diese Form ist aber nur zufällig entstanden und wahrscheinlich ein Kunstprodukt.

Die Größe der jungen Zelle ist entweder genau dieselbe oder annähernd die gleiche wie bei der Ursprungszelle.

Zu den letzten Akten des Fortpflanzungsvorganges gehört die Hofbildung um beide Kerne. Gewöhnlich geht der Mutterkern hierbei voran, manchmal erfolgt die Bildung gleichzeitig. Die Bilder 10, 11 und 12 habe ich, wie alle übrigen, sämtlich gesehen; es kommen aber auch Bilder vor, in denen die Kernhofformierung erst später eintritt. Von welchen Kräften die Schaffung dieses Hofes abhängig ist, weiß ich nicht.

In großen Zügen sind im Vorstehenden die Kernteilung und die Sprossenbildung geschildert worden. Die Schicksale der beiden den befruchteten Kern konstituierenden Grundsubstanzen bis in weitere Details hinein zu verfolgen, ist nicht uninteressant. Bisher ist die Frage ja noch nicht behandelt, ob sich der Zellkern mitotisch oder amitotisch teilt. Er herrschen darüber noch Meinungsverschiedenheiten und Casagrandi[1]) hebt die Schwierigkeit der Deutung bei den verhandenen Formen hervor.

Janssens und Leblanc votieren für mitotische Kernteilung in der Hefezelle sowohl bei der Sprossenbildung wie bei der Sporenformierung, Wager hält nur bei der Sporenbildung die Karyokinese nicht für ausgeschlossen. Andere Untersucher leugnen die mitotische Kernteilung bei den Blastomyceten. Janssens und Leblanc stützen sich bei ihrem Votum darauf, daß sie deut-

1) Casagrandi, Ueber die Morphologie der Blastomyceten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. III. p. 721.)

liche Kernteilung mit Spindelbildung gesehen haben. Es erscheint mir fraglos, daß sie Bilder wie Fig. 24 gesehen haben, die übrigens recht selten sind. Wie Fig. 24 zu deuten ist, das wollen wir aber vorläufig noch unentschieden lassen.

Um mehr zu erkennen wie in Fig. 1—13, brauchte ich besonders große Zellen aus lebhaft vegetierenden Kulturen. Die Hefensorte mußte aber auch für die folgenden Untersuchungen unter allen Umständen die gleiche bleiben; die Färbetechnik durfte auch nicht geändert werden im Interesse der Identitätsfeststellung der als echte Kernbildungen anzusprechenden säurefesten Zellbestandteile. Ich habe deshalb die Zellen zur Beobachtung herangezogen, welche bei Bruttemperatur auf traubenzuckerhaltigem Agar gewachsen waren. Um nicht durch den entwickelungshemmenden oder -verändernden Einfluß der Hefenstoffwechselprodukte auf die Zellen beeinflußte Bilder zu erhalten, habe ich mit Vorliebe recht junge Kolonieen zum Studium der uns interessierenden Fragen herangezogen.

Die Größe der Zellen erleichtert die Untersuchung, die Lebhaftigkeit des Wachstums zeigt uns fast gar keine Ruheformen und die Feinheit der Zellmembran gestattet eine bequeme und schöne Tinktion.

Diesen Vorteilen gegenüber darf ein mitunter in die Erscheinung tretender Nachteil nicht unerwähnt gelassen werden. Infolge der Lebhaftigkeit des Wachstums sind die oft recht feinen Kernfiguren in ihren Linien nicht scharf genug ausgeprägt, sondern zeigen verschwommene Ränder. Deshalb empfiehlt es sich, ganz junge Zuckeragarkulturen, besonders solche, deren Alter nur nach Stunden zählt, vor der Untersuchung für einige Zeit in den Eisschrank zu stellen. Man bekommt dann sehr schöne Bilder, bei denen die Linien der Kernfiguren scharf begrenzt erscheinen.

In Präparaten, die man nach solcher Vorbehandlung durch nur sekundenlange Färbung mit Loeffler-Blau anfertigt und die man dann bei intensivster Beleuchtung durchmustert, findet man Zellen, die auf blaßblauem Grunde einen Doppelquerstreifen in der Mitte besitzen (Fig. 14). Die eine Hälfte dieses Streifens hat in sehr intensiver Weise die blaue Farbe angenommen, die andere Hälfte hat sich metachromatisch gefärbt. Sie ist nicht minder dunkel wie das blaue Band, erscheint bei durchfallendem Lichte aber violett. Es fällt uns nicht schwer, nach dem, was wir von der säurefesten Färbbarkeit des Kernes wissen, und bekannt mit der Eigenschaft desselben, in der ungefärbten Zelle glatt, glänzend und stark lichtbrechend zu erscheinen, in dem metachromatischen Anteil des Aequatorialstreifens den weiblichen Kern zu agnostizieren. Diese Doppelfärbung mit einfachem Farbstoff habe ich nicht nur in diesem Stadium der am Kern verlaufenden Erscheinungen gesehen, sondern auch an Bildern, wie sie etwa Fig. 22 aufweist, indem aber immer dort, wo die Lagerung der different gefärbten Kernanteile zu einander noch beobachtet werden konnte, d. h. wo die Linienführung noch nicht zu verschlungen war, blaue und violette Kernschicht stets gleich zu einander gelagert waren. So

lange die Unterschiede der Färbung überhaupt noch zu erkennen waren, so lange habe ich nie eine Abweichung von dieser Lageanordnung bemerkt. Ich habe nie eine scheidenartige Umhüllung der einen Kerngrundsubstanz durch die andere beobachtet, noch je gesehen, daß sie umeinander geschlungen waren. Stets die gleiche Stellung gegeneinander wahrend, so ziehen sie eng verbunden hin. Die Doppelwertigkeit kann man mitunter an Entwickelungsstadien, wie sie Fig. 14 und 22 darbieten, auch erkennen, wenn man die oben erwähnte Doppelfärbung (Fuchsin-Methylenblau) vornimmt. Das Präparat ist mit diesen schnell gewachsenen, wurstförmigen Hefen schwer darstellbar. Um eine Ueberfärbung zu vermeiden, empfiehlt es sich, sehr stark verdünnte Methylenblaulösung zu benützen und auch diese nur kurze Zeit einwirken zu lassen.

Gelingt eine derartige Färbung aber, dann ist die Mühe auch reich belohnt. An der säurefesten Fuchsinfärbung des einen Kernanteiles und an der Methylenblaufärbung des anderen wird man ein weiteres Hilfsmittel zum Wiedererkennen des weiblichen Kernes und des sich mit ihm konjugierenden Blaupolkörpers haben. Man wird hier unter Umständen aber auch noch deutlicher erkennbar die Bestätigung derjenigen Zustände und Vorgänge finden, welche schon die bichromatische Methylenblaufärbung uns erkennen gelehrt hat.

Diese Kernring- oder -plattenbildung — um was es sich handelt, ist aus dem Bilde (14) nicht zu erkennen — ist aber nicht die erste Stufe in der Entwickelungsreihe des durch eine geschlechtliche Funktion beeinflußten Kernes. Aus Fig. 15 sehen wir, daß es sich nur um ein ringförmiges Gebilde handeln kann. Das Bild ist insofern noch interessant, als wir hier den Entstehungsmodus desselben aus einer fast mathematisch präzisen Form deutlich ersehen können. Der Kern besteht zu einem großen Teile noch als ein kugelförmiger bis ellipsoider Körper, der den übrigen Teil seines ursprünglichen Materiales bereits zur Bildung eines Reifens hergegeben hat. Dieser Reifen liegt der Zellwand ungefähr dort an, wo dieselbe von der mittleren Querebene geschnitten wird. Der ganze Kern hat in diesem Stadium deutlich Siegelringform. Dieselbe kommt nun nicht etwa derart zustande, daß aus dem Kerne zwei Arme herauswachsen, die den kleinsten Zellendurchmesser umfassend und dabei der Zellwand anliegend einander zustreben, bis sie sich schließlich dem Kernrest gegenüber vereinigen können, sondern aus dem Kerne löst sich unter dem Drucke des männlichen Prinzips ein kleiner äquatorialer Ring, der nur noch an einer einzigen Stelle mit dem Kernrest verbunden bleibt, und von hier bezieht der Ring sein Material, um immer weiter zu wachsen, bis er zunächst durch den Druck, welchen ihm die Kernmembran entgegensetzt, am weiteren Wachstum gehindert wird. Der Kern fließt dann bis auf den letzten Rest hinüber in den Ring, und das Resultat ist ein in sich geschlossener Reif, der — von oben gesehen — das Bild der Fig. 16 darbietet.

Jetzt wird es uns auch klar, wie Moeller darauf gekommen

ist (l. c.), zu schreiben: „Jede Hefezelle hat einen Kern, welcher in betreff der Größe innerhalb sehr weiter Grenzen verschieden ist. Die Gestalt desselben ist meistens rundlich, zuweilen auch abgeflacht scheibenförmig.“ Er hat eben das in Fig. 16 dargestellte Stadium der Kernteilung zu Gesicht bekommen. Eine einfache Ueberlegung erläutert uns den Zweck der weiteren Vorgänge. Der Zweck der geschlechtlichen Befruchtung ist doch die Beeinflussung des an sich nicht in Teilung gehenden Kernes durch das männliche Element, damit der träge weibliche Teil entweder die kinetische Energie zugeführt erhält oder damit die potentia vorhandene Energie in kinetische umgewandelt wird. Ein möglichst große Anregung ist dann zu erwarten, wenn auch die Mischung der Elemente eine recht gründliche ist. Lägen nun etwa zwei Metallplatten aufeinander und man wollte eine hohe Mischung erzielen, so würde man diese Platten zu einer recht großen Fläche schweißen oder walzen. Im Interesse der möglichst innigen Vermischung geht auch am Kern der Hefenzelle ein ähnlicher Akt vor sich, woraus wir übrigens auch noch erkennen, daß mindestens einer der beiden konstituierenden Grundsubstanzen eine erhebliche Festigkeit neben der schon erwähnten Elasticität zukommt. Zwei flüssige oder gelöste Körper würden sich in viel weniger umständlicher Weise vermischen.

Dem immer weiter einwirkenden Drucke des männlichen Elementes nachgebend, flacht sich der Kernring ab und wird, wie wir aus den scheinbar kolbigen Seitenteilen des in Fig. 17 schräg liegenden Ringes erkennen, zu einem Gebilde von größerer Breite als Höhe. Aber auch diese Form ist nicht beständig. Sie sucht bei weiterem Wachstum den Raum, der ihr durch die Zellgrenzen eng zugemessen ist, nach Möglichkeit auszunützen. Dies gelingt dem Kernring auch dadurch, daß er eine mehr oder weniger regelmäßige Fältelung bildet (Fig. 18). Sehr häufig ist das Plissé ganz exakt und es ist auch kein triftiger Grund vorhanden, aus dem die eine Stelle des Ringes vor der anderen den Vorzug haben sollte. Aber immer dünner und länger wird der Ringfaden und findet schließlich auch durch die Faltenbildung nicht mehr hinreichend Raum für sich vor. Deshalb schiebt er sich dann unregelmäßig zusammen und es entsteht ein Knäuel mit einem Fadengewirr, das unser Auge nicht mehr verfolgen kann (Fig. 19).

Ich möchte hier nochmals hervorheben, daß die Fig. 14—25 keinen anderen Gegenstand darstellen als Fig. 1—13. Es handelt sich immer um die Kernteilung bei demselben S a c c h a r o m y c e s e l l i p s o i d e s, und ich habe die letzten 12 Nummern der Tafel nur abgebildet, um einige Feinheiten bei der Kernteilung zu veranschaulichen. Wollte man eine ganz strenge Reihenfolge der Bilder einhalten, dann wären Fig. 14—25 zwischen 3 und 7 einzuschieben. Wir wissen schon, daß der Knäuel zur Einleitung der Teilung in die Hufeisenform übergeht. Die Fig. 20 zeigt uns den Kern in dieser Form. Verbindungssteg und die beiden querstehenden Kernenden sind ungefähr von gleicher Stärke. Schlinge auf Schlinge gleitet aus dem Längsstück in die beiden Querenden hinüber, bis

diese nur noch durch einen einzigen Faden verbunden sind. Dieser reißt, seine Enden werden eingezogen, und die Trennung ist vollständig. Jeder der beiden neuen Körper konsolidiert sich dann wieder zu einem massiven, rundlichen, anscheinend homogenen Kern.

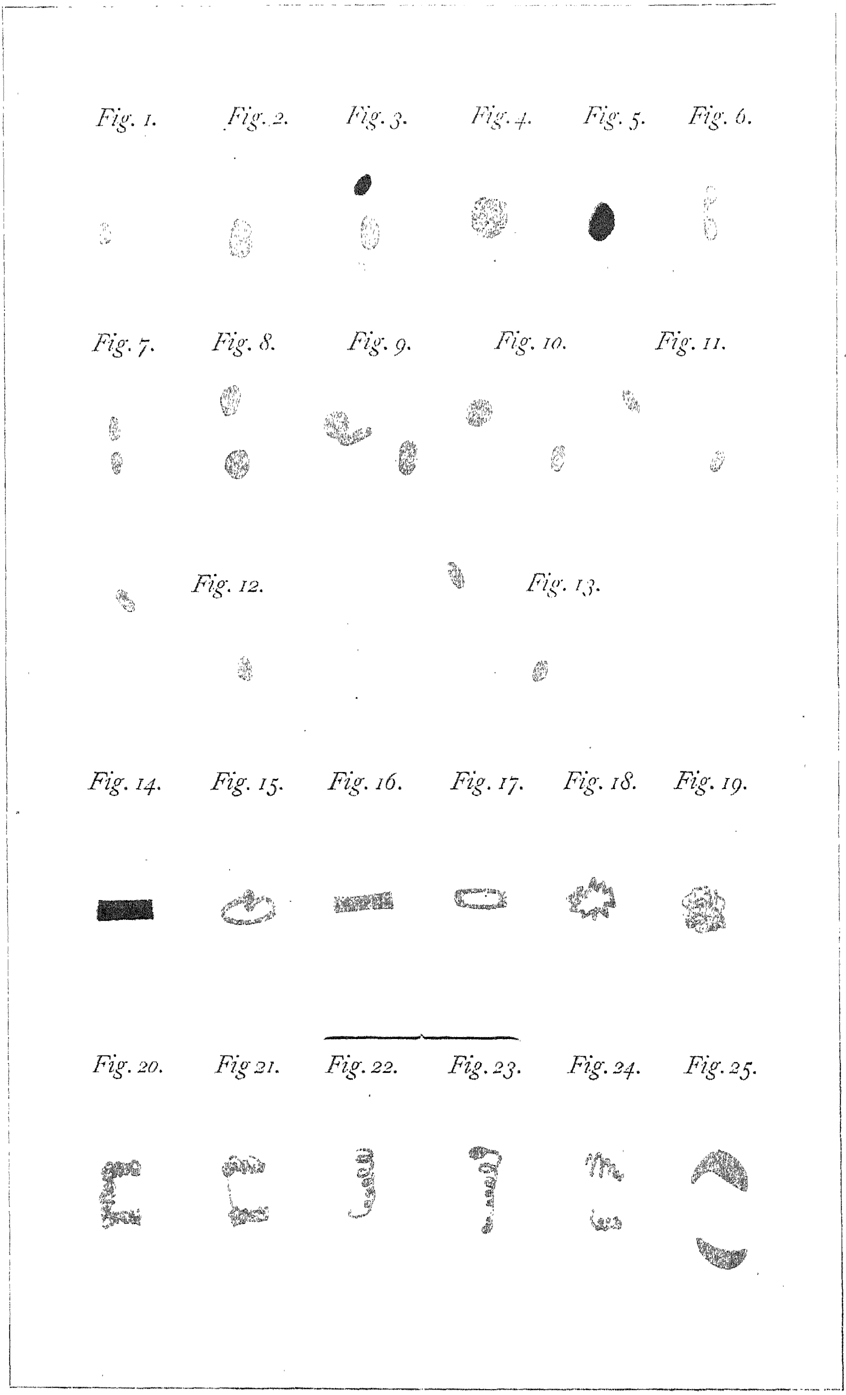
Aber nicht immer geht die Aufknäuelung des Fadens bis zur Grenze des Unentwirrbaren. Wo der Faden — wie mir scheint — wegen Materialmangels verhältnismäßig nur geringe Länge besitzt, da kann man seine Lagerung noch in allen Details erkennen. Die Fig. 22 und 23 zeigen uns den Kernfaden in spiralähnlicher Linie, die sich dann ebenfalls an den Enden umbiegt und nach Trennung der Verbindung das sub 24 dargestellte Bild zeigt. Die Fig. 23 läßt uns übrigens noch erkennen, wie an den Enden des Fadens bereits die Neukonsolidierung der beiden Kerne beginnt. Das geschieht hier bereits in einem sehr frühen Entwickelungsstadium. Ich habe diesen Beginn der Bildung massiver Kerne sonst immer erst nach erfolgter Teilung des Fadens beobachten können. Im übrigen sind die Bilder 22 und 23 identisch, was durch die Klammer ausgedrückt sein mag.

Die Gestalt der neuen Kerne ist ja nun bekanntlich eine kugelförmige bis ellipsoide. Ob demnach ein Zwischenstadium, wie es uns Fig. 25 zeigt, zu den regelmäßigen Ercheinungen gehört, möchte ich doch bei der Seltenheit des Bildes für sehr fraglich halten. So plausibel es auch an und für sich erscheinen mag, daß aus Formen wie 21 und 24 vor der Kugelformbildung Körper von sichelähnlicher Gestalt wie in Fig. 25 entstehen, so ist diese Form doch, wie gesagt, viel zu selten anzutreffen, als daß ich sie für eine gesetzmäßige Erscheinung glaube halten zu dürfen. An diesem Zweifel ändern auch die bekannten elastischen Eigenschaften des Kernes nichts.

Aus der beigegebenen Tafel und ihrer vorstehenden Beschreibung geht zur Evidenz hervor, daß die Kernteilung beim Saccharomyces ellipsoides Hansen I eine mitotische in der streng etymologischen Bedeutung des Wortes ist. Allerdings zeigen hier die Vorgänge manche Abweichung von der Mitosenbildung, wie sie sonst beschrieben wird; ich erinnere nur an die fehlende Schleifenbildung, wie auch daran, daß Fig. 24 weder strenge Spindelform zeigt noch in der bei der Spindelbildung üblichen Weise entsteht.

Die Differenzen könnten aber, nicht ohne eine gewisse Berechtigung, durch die Verschiedenheit der Zellneubildung erklärt werden. Sonst handelt es sich stets um Zellteilung — hier um Sprossung.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. Wernicke und dem ersten Assistenten des Instituts, Herrn Kollegen Dr. Ludwig Lange, für das liebenswürdige Interesse, welches dieselben meiner Arbeit entgegengebracht haben, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.



Dr. Hirschbruch. Verlag von Gustav Fischer, Jena

Bakteriologische Untersuchungen über Mehlteiggärung.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich.]

Von **Wilh. Holliger**, Seminarlehrer in Wettingen (Aargau, Schweiz).

(Schluß.)

8. Vergleichende Beschreibung der aus Sauerteig und Preßhefeteig isolierten langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien.

Bei unseren Bemühungen, aus Sauerteig mittels des Plattenverfahrens gasbildende Bakterien zu isolieren, waren wir mitunter auf Kolonieen gestoßen, die zum Teil vollständig denjenigen des Bact. lactis acidi entsprachen, zum Teil solchen mehr oder weniger ähnlich waren. Dieser Typus von Kolonieen war gegenüber der Zahl der Hefekolonieen immer in der Minderzahl. Erst mit Hilfe der anaëroben Isolierungsmethode waren wir mit einem Schlage in die Lage versetzt, aus jeder Sauerteigprobe eine Art von Kolonieen in wirklich großer Zahl zu erhalten, welche aus den spezifischen Sauerteigstäbchen bestanden. Man könnte nun geneigt sein, diesen Organismus als einen obligat anaëroben zu betrachten, weil er sich nur mit Hilfe anaërober Isolierungsmethoden gewinnen ließ. Doch würde dieser Schluß dem wahren Sachverhalte nicht entsprechen. Schon eine erste Ueberimpfung einer Kolonie der Kultur in hoher Schicht auf Traubenzuckeragar in Form der Stichkultur ergiebt bei der Entwickelung der letzteren nicht das Bild, das einem obligat anaëroben Spaltpilz entspricht. Das Wachstum reicht nämlich im Stichkanal ungefähr bis zur Oberfläche des Nährbodens, ähnlich wie dies bei den Erregern der spontanen Milchgerinnung der Fall ist. Ein Versuch, unsere Stäbchen von Traubenzuckeragarstichkulturen aus auf Traubenzuckeragarplatten zu verpflanzen, war von Erfolg begleitet. Die Platten boten ungefähr das Bild der nicht gasbildenden Milchsäurebakterien. Der anaërobe Charakter der Sauerteigstäbchen ist also nur ein scheinbarer. Im Sauerteig selber arbeiten die Stäbchen zeitweise jedenfalls bei vollständigem Ausschluß von Sauerstoff, es ist daher auch begreiflich, wenn sie bei Uebertragung auf gewöhnliche, der Luft zugängliche Platten sich nicht zu Kolonieen entwickeln. Es ist aber auch verständlich, daß einzelne Stäbchen, die vielleicht im peripherischen Teile eines Teiges liegen, sich weniger empfindlich gegen Luftzutritt erweisen. Auf diese Weise erklären wir uns das gelegentliche Vorkommen vereinzelter Kolonieen auf Sauerteigplatten, welche den Sauerteigstäbchen näher als dem Bact. lactis acidi zu stehen schienen.

Da die Möglichkeit, Kolonieen der Sauerteigstäbchen auf Platten zu bekommen, nicht ausgeschlossen war, so richteten wir unser Augenmerk bei der späteren Untersuchung von Preßhefeteigen auf die Gewinnung solcher Kolonieen.

Gelatineplatten aus Preßhefeteig hatten nach 4 Tagen ganz das gleiche Aussehen wie Sauerteigplatten, indem sie fast Reinkulturen

von Hefe waren. Auf Platten aus zwei verschiedenen Teigproben war keine einzige Kolonie von Bact. levans oder dem gelben Gasbildner zu entdecken, was durch das Aussehen der Platten und die mikroskopische Untersuchung der wenigen vorhandenen größeren Bakterienkolonieen bewiesen wurde. Erst später wurden beim näheren Zusehen mit der Lupe und dem Mikroskop winzig kleine Bakterienkolonieen als schwache Pünktchen sichtbar. Dieselben haben wir einer genaueren Untersuchung auf folgende Weise zugänglich gemacht: Mit Zuhilfenahme des Mikroskopes wurde auf der Gelatine eine Stelle ausgesucht und bezeichnet, wo eine oder mehrere dieser Kolonieen ziemlich frei lagen. Mit sterilem Messerchen wurde nun diese Stelle sorgfältig ausgeschnitten und kam auf einen gewöhnlichen, nicht hohl geschliffenen Objektträger in einen Tropfen Wasser. Es mußte Sorge getragen werden, daß möglichst wenig Nährboden die Kolonie umhüllte. Das herausgeschnittene Gelatinewürfelchen wurde nun mit dem Deckglas bedeckt und der Objektträger über dem kleinen Flämmchen des Sparbrenners mit äußerster Vorsicht erhitzt. Fortwährend blieb dabei die Kolonie unter der Kontrolle der Lupe. Als die Gelatine zu schmelzen begann, breitete sich auch die Kolonie aus. Da sie nie aus den Augen gelassen worden war, so konnte ihre Lage bezeichnet und unter dem Mikroskop leicht wiedergefunden werden. Die Untersuchung ergab immer deformierte Stäbchen von sehr verschiedener Form; bald waren sie kürzer und dicker, mit vielen Involutionsformen untermischt, bald länger und schmäler, mit etwas weniger Involutionsformen.

Solche Kolonieen wurden nun auf Traubenzuckeragarstich überimpft, da wir vermuteten, daß sie hier besser gedeihen würden. Abimpfung durch direkten Stich war wegen der Kleinheit der Kolonien nicht möglich. Die Nadel wurde daher zuerst heiß gemacht, dann damit die Gelatine durchstoßen und zum Schmelzen gebracht und sodann der Einstich in die Agarmasse vollzogen. Die Stichkulturen wuchsen gleich wie die der Sauerteigstäbchen. Im hängenden Tropfen zeigten sie teilweise das Aussehen typischer Sauerteigstäbchen von verschiedener Länge und ohne jegliche Deformation, teilweise waren sie nicht so regelmäßig, sondern zeigten reichlich Involutionsformen mit verschieden starker Deformation. Nirgends war aber die Umgestaltung eine so weitgehende, wie sie bei der mikroskopischen Untersuchung der Plattenkolonieen beobachtet worden war. Für Preßhefeteig war somit nachgewiesen, daß die spezifischen Säurestäbchen auch mit Hilfe gewöhnlicher Platten ohne Sauerstoffausschluß isoliert werden können.

Wenn solches hier leichter gelingt als beim Sauerteig, so wird dies kaum überraschen, wenn man in Erwägung zieht, daß bei der Preßhefefabrikation die vergärenden Maischen absichtlich gelüftet werden, um eine möglichst hohe Ausbeute an Hefe zu bekommen. Die mit der Hefe dem Teige zugeführten Stäbchen sind daher weniger als diejenigen des Sauerteiges an anaërobe Existenzbedingungen angepaßt.

Das Verhalten der Stäbchen auf den gebräuchlichsten Nährböden zeigt die folgende Tabelle, wo nebeneinander gestellt sind

Kulturen aus Sauerteig und solche aus Preßhefeteig. Ausgangskulturen: Traubenzuckeragarstichkulturen, einige Tage bei 30° gewachsen. Seiner Zeit sind die Stichkulturen aus Kolonieen angelegt worden, deren Individuen die typischen morphologischen Eigenschaften zeigten.

Langstäbchenförmige Milchsäurebakterien.

	a) Aus Sauerteig	b) Aus Preßhefeteig
Traubenzucker-Agarplatten	Bei 30°: Nach 4 Tagen Kolonieen klein, oberflächliche höchstens $^1/_2$ mm Durchm., kreisrund, etwas gewölbt, Kolonieen der Tiefe glattrandig, kugelig, noch kleiner als die der Oberfläche, graulich-weiß.	Etwas kräftiger, sonst ganz gleich.
Gew. Gelatineplatten	Zimmer-Temperatur: Nach 5 Tagen noch kein Wachstum, nach weiteren 2 Tagen von freiem Auge kaum sichtbare punktförmige Kolonieen, bei mikroskopischer Vergrößerung kreisrund, scharfrandig.	Wie beim Sauerteig, nur Kolonieen etwas größer, deutlich sichtbar.
Gew. Gelatinestich	Zimmer-Temperatur: Nach 2 Tagen im Stichkanal deutliches, aber spärliches Wachstum, keine Auflagerung. Nach weiteren 2 Tagen Wachstum wenig stärker.	Wie beim Sauerteig, Wachstum nach 4 Tagen immer noch spärlich, aber kräftiger als bei Sauerteig.
Molkengelatinestich	Zimmer-Temperatur: Wie bei gewöhnlichem Gelatinestich.	Wie bei gewöhnlichem Gelatinestich.
Agarstrich	Bei 30°: Nach 3 Tagen spärliches Wachstum, 1 mm breiter, graulicher, durchscheinender Streifen. Nach 2 weiteren Tagen etwas kräftiger.	Aehnlich, vielleicht etwas üppiger, nach weiteren 2 Tagen wenig verändert.
Kartoffel	Bei 30°: Nach 3 Tagen sehr spärliches Wachstum; die Spuren der Impfstriche von freiem Auge kaum zu erkennen. Nach 2 weiteren Tagen nicht merklich besser.	Wie beim Sauerteig.
Milch	Bei 30°: Nach 3 Tagen keine sichtbare Veränderung. Nach weiteren 4 Tagen keine Veränderung.	Wie beim Sauerteig.
Bouillon	Bei 30°: Nach 3 Tagen Bouillon ganz klar, äußerst spärlicher Bodensatz. Nach weiteren 2 Tagen Bodensatz deutlich, 3 mm Durchmesser.	Bei 30°: Nach 3 Tagen sehr schwache Trübung, geringe Mengen weißlichen Bodensatzes. Nach weiteren 2 Tagen Trübung sozusagen verschwunden, Bodensatz etwas zugenommen, etwas kräftiger als aus Sauerteig.
Traubenzuckerbouillon	Bei 30°: Nach 2 Tagen keine Entwickelung, nach weiteren 2 Tagen deutliche Trübung, Bodensatz ca. 5 mm Durchmesser, beim Aufwirbeln leicht zerteilbar.	Bei 30°: Nach 2 Tagen kräftige Trübung, ziemlich starker Bodensatz. Nach weiteren 2 Tagen Trübung etwas stärker als beim Sauerteig, Bodensatz kräftiger, beim Aufwirbeln leicht zerteilbar.

Das mikroskopische Aussehen der auf verschiedenen Nährböden gewachsenen Stäbchen ist ein sehr verschiedenes. Die in der folgenden Tabelle zuerst beschriebenen Traubenzuckeragar-Stichkulturen lieferten das Impfmaterial für die übrigen Kulturen, so daß die Tabelle deutlich den Einfluß der Kulturart auf die Stäbchen veranschaulicht.

	a. Aus Sauerteig.	b. Aus Preßhefeteig.
Traubenzucker-Agarstich	Stäbchen von normalem Aussehen. Vorherrschen der langen, daneben aber auch reichlich kurze. Stäbchen meistens einfach, ohne Kettenbildung.	Stäbchen von typischem Aussehen, Vorherrschen der langen, im Mittel 4—5 μ. Stäbchen meist einfach, ohne Kettenbildung.
Kartoffel	Ganz anderes Aussehen, nur vereinzelte Längsstäbchen, fast ausschließlich kurze Formen von 1—2 μ Länge und 0,8 bis 1 μ Dicke. Doppelstäbchen häufig, ebenso Ketten, worunter vereinzelte lange.	Ganz anderes Aussehen, längere Stäbchen nur vereinzelt, Formen im allgemeinen stark verkürzt, die meisten 2—3 μ lang und 0,8—1 μ dick, fast ausschließlich Doppelstäbchen und kurze Ketten. Ziemlich häufig sind auch körnchenförmige Elemente, anscheinend verkümmerte Mikroben.
Agarstrich	Meistens Doppelstäbchen in Form von Diplokokken, daneben auch normale Doppelstäbchen, aber in geringer Menge und stets verkürzt. Zahlreiche Involutionsformen, Konglomerate verschieden großer, kokkenähnlicher Elemente.	Meistens Kurzstäbchen von Diplokokkenform, vereinzelte Stäbchen von normaler Form, aber verkürzt, 2—3—4 μ lang. Einzelne Kettchen von 3 und 4 Gliedern. Involutionsformen, aber nicht so häufig, wie aus Sauerteig.
Traubenzucker-Agarplatten	Tiefenkolonieen: Stäbchen sehen normal aus, im Mittel 3—4 μ lang und 0,8—1 μ dick. Oberflächenkolonieen: Ebenso.	Tiefenkolonieen: Stäbchen von normalem Aussehen, im Mittel 4—5 μ lang. Oberflächenkolonieen: Ebenso.

Zu erinnern ist noch, daß auf Gelatineplatten die Stäbchen sehr stark deformieren. — Wir haben beim Untersuchen der Stäbchen auf den verschiedenen Nährböden die verschiedenartigsten Bilder erhalten, welche uns zum Teil an jene erinnerten, die wir im Laufe der Sauerteig- und Preßhefeteiguntersuchungen zu Gesicht bekommen hatten. Unter denjenigen Formen, die wir mehrfach als Bact. lactis acidi-ähnliche erwähnten, mögen sich mitunter mehr oder weniger deformierte Säurestäbchen der soeben beschriebenen Art befunden haben.

9. Teiggärungsversuche unter Anwendung von Reinkulturen.

Im ersten Teile dieser Arbeit wurde der Nachweis geleistet, daß man in durch Aetherbehandlung sterilisiertem Mehl sowohl durch Bact. levans als auch durch den „gelben" Gasbildner eine Teiggärung hervorrufen kann, wenn man die betreffenden Bakterien zuvor in dem für Herstellung des Teiges verwendeten sterilisierten Wasser zerteilt hat. Unsere Absicht, in genannter

Weise sterilisiertes Mehl nun auch als Nährboden bei einer größeren Versuchsreihe zu verwenden, bei welcher die aus Sauerteig isolierte Hefe einerseits und die aus Sauerteig sowie aus Preßhefeteig isolierten spezifischen Stäbchen andererseits, sowie Kombinationen der beiden Organismengruppen das Impfmaterial bilden sollten, wurde indessen vereitelt, indem Reinkulturen der Hefe, sowie der Säurestäbchen nur unregelmäßige Erfolge bezüglich des Wachstums aufwiesen. So hatten sich z. B. von 6 verschiedenen Reinkulturen der Säurestäbchen nach Ueberimpfung auf steriles Mehl unter Zufügung der nötigen Wassermenge nur 2 entwickelt, diese allerdings unter ganz beträchtlicher Säureproduktion. Bei den übrigen 4 Proben war der Säuregehalt nach längerem Aufenthalt derselben im 30° Schrank gleich demjenigen des nicht geimpften Mehles und übereinstimmend mit diesem Befund ließ die mikroskopische Untersuchung keine nennenswerte Vermehrung der Bakterien erkennen. Uebrigens hatten auch die beiden durch Wachstum und Säurebildung ausgezeichneten Proben in den ersten Tagen sich unverändert gehalten. Man erhielt den Eindruck, daß zuerst eine Schwelle überschritten werden mußte, die durch irgend einen hemmenden Einfluß gebildet war. Ob dieser hemmende Einfluß in einer, wenn auch geringfügigen Veränderung gewisser Bestandteile des Mehles durch den Aether, oder in einer Verunreinigung des Aethers selbst zu suchen war, können wir zur Zeit nicht entscheiden. Jedenfalls sind die mit durch Aether sterilisiertem Mehl gewonnenen Resultate mit Vorsicht zu verwenden und darf aus dem Verhalten bestimmter Organismen in solchem Mehl nicht ohne weiteres auf das Verhalten in nicht sterilem Mehl geschlossen werden. Unsere oben erwähnten 6 Reinkulturen der Säurestäbchen haben sich in nicht sterilisiertem Mehl durchgehends sehr wirksam gezeigt.

In Rücksicht auf diese Thatsachen beschlossen wir, unsere Versuchsreihe in der Weise durchzuführen, daß wir die verschiedenen Reinkulturen nicht auf sterilisiertes, sondern auf gewöhnliches, aus einer Bäckerei bezogenes Mehl verimpften. Wenn im allgemeinen ein solches Vorgehen nicht geeignet ist, aus dem Ausfall der Versuche beweiskräftige Schlüsse über die Funktionen der in Form von Reinkulturen eingeimpften Organismen zu ziehen, so muß doch zugestanden werden, daß im vorliegenden Fall die Verhältnisse eigenartig genug liegen, um das Beschreiten des angegebenen Weges rechtfertigen zu können. Wir haben nämlich durch die vorhergehenden Ausführungen gezeigt, daß Hefe sich in einem aus Mehl und Wasser bereiteten Teige nicht findet und auch nach mehrmals wiederholter Vermehrung eines solchen Teiges nicht nachzuweisen ist. Ebenso ist aus den Untersuchungen verschiedener Mehlproben hervorgegangen, daß die typischen Sauerteigstäbchen darin in nennenswerter Menge nicht enthalten sind, und die mikroskopische Untersuchung spontan gärender Teige ließ diese Stäbchen auch niemals erkennen. Unsere dem Mehl zugesetzten Reinkulturen betrafen also Organismen, welche im Mehl und Wasser spontan sich nicht einzustellen pflegen; um so mehr war zu erwarten, daß trotz der Verwendung nicht sterilisierten Mehls die Wirkung

der Impfung im einzelnen Fall klar hervortreten würde. Nicht nur diese Vermutung erschien uns zum vornherein gerechtfertigt, sondern wir durften auch weiterhin Aufschlüsse erwarten über das Verhalten unserer in Reinkultur zugefügten Organismen zu den in Mehl und Wasser schon vorhandenen Arten, Aufschlüsse, die selbstverständlich bei Verwendung sterilisierten Mehles nicht in Frage gekommen wären.

Zur Verwendung kamen für die Versuche 6 verschiedene Stämme der langstäbchenförmigen Milchsäurebakterien, wovon 4 aus Sauerteigproben und 2 aus Preßhefeteigproben isoliert worden sind. Die Bakterien waren auf Traubenzuckeragarstichkulturen und die Hefen auf Malzextraktgelatinestrichkulturen weitergezüchtet. Seit der Isolierung der Kulturen hatten nur 2—3 Ueberimpfungen auf frischen Nährboden stattgefunden.

Für die Herstellung der Teigproben benutzten wir immer dasselbe Mehl. Es wurden je 60 g desselben mit der nötigen Menge Leitungswasser, das, mit Ausnahme der spontan gärenden Proben, im einzelnen Fall die zur Impfung verwendeten Organismen zugefügt erhielt, zu einem Teig geknetet und dieser in einem reinen Glase an einen Ort gestellt, wo die Temperatur etwa 20—22° C betrug.

Folgende Arten von Teigen wurden bereitet:

a) Ohne Zusatz (spontane Gärung)	2 Proben
b) Mit Zusatz von Milchsäurestäbchen	6 „
c) „ „ „ Hefen	3 „
d) „ „ „ Milchsäurestäbchen + Hefen	6 „
Zusammen	17 Proben

Die Kombination von Stäbchen und Hefe erfolgte ohne Rücksicht auf den Ursprung der betreffenden Kulturen. Es wurde einfach jede der 3 Hefekulturen einmal mit einer, das andere Mal mit einer anderen der Stäbchenkulturen zusammen verimpft, so daß in jedem der 6 verschiedenen Fälle eine andere Stäbchenkultur zur Verwendung kam.

Von den Reinkulturen wurden zunächst Aufschwemmungen in je 10 ccm sterilem Wasser gemacht. Die 6 Aufschwemmungen der Stäbchen kamen in 100 ccm Kölbchen und wurden mit Leitungswasser bis zu 80—90 ccm aufgefüllt. Ungefähr die Hälfte der Aufschwemmung benutzte man für den Teig mit Stäbchen allein, die andere für den Teig mit Stäbchen + Hefe, indem einfach das Gläschen mit der Hefereinkulturaufschwemmung zu der Hälfte der Stäbchenaufschwemmung gegeben wurde. Bei Hefe allein kam die Aufschwemmung zu ca. 30 ccm Leitungswasser. Um eine Infektion mit Hefe bezw. Stäbchen bei den Teigen mit Stäbchen resp. Hefe allein zu vermeiden, wurden alle möglichen Vorsichtsmaßregeln ergriffen. Die Teige wurden in besonderen Gefäßen und von verschiedenen Personen in verschiedenen Zimmern hergestellt. Was die Zahl der eingeimpften Organismen betraf, so war es natürlich nicht möglich, gerade die Verhältnisse zu treffen, wie sie im Sauerteig herrschen. Doch belehrte uns eine unmittelbar nach Herstellung der Proben angestellte mikroskopische

Prüfung, daß die zur Verimpfung gelangten Mengen nicht unglücklich gewählt waren. Selten ließ sich im Gesichtsfeld mehr als ein Stäbchen finden.

Nach 15 Stunden waren die Teige mit Hefe und die mit Hefe + Stäbchen in kräftigster Gärung, die später kaum mehr zunahm; diejenigen mit Stäbchen allein gingen nicht auf und zeigten auch in der Folge keine Spur von Gärung. Die spontanen Teige hatten nach 24 Stunden die Gärung noch nicht begonnen. Später gingen sie auf, aber lange nicht so stark wie diejenigen, welche einen Zusatz von Hefezellen bekommen hatten.

Für die folgenden Erörterungen wird sich die Einführung einiger Abkürzungen empfehlen:

St = Stäbchen	S.T. = Sauerteig
H = Hefe	P.T. = Preßhefeteig

Untersuchung nach 24 Stunden.

a) Oberfläche der Teigproben.

Spontan: Beide Proben mit zahlreichen gelben, kleinsten Schleimtröpfchen besetzt. Im h. Tr. erwiesen sie sich aus levansähnlichen, aber meist unbeweglichen Stäbchen bestehend. In beiden Proben fanden sich kleine Schimmelrasen.

Stäbchen allein: Gelbe Tröpfchen im allgemeinen viel spärlicher. Schimmel nirgends deutlich.

Hefe allein: Nirgends eine Spur von Bakterien- oder Schimmelvegetation auf der Oberfläche.

Hefe + Stäbchen: Ebenso.

b) Das Innere der Teigproben.

Spontan: Bakterien sehr spärlich, per Gesichtsfeld gar keine oder nur vereinzelte, darunter keine beweglichen.

Stäbchen allein: Ueberall eine entschiedene Zunahme der Stäbchen, gewöhnlich mit Leichtigkeit per Gesichtsfeld 10 oder mehr kleine und mittelgroße, unbewegliche Doppelstäbchen zu sehen.

Hefe allein: Bei H.S.T. I und H.S.T. III gar keine Bakterien zu sehen, bei H.S.T. II vereinzelte, höchstens 1 Stäbchen per Gesichtsfeld.

Hefe + Stäbchen: Bakterien sehr spärlich, nur vereinzelte per Gesichtsfeld, bei der Probe mit H.S.T. III etwas häufiger, mehrere per Gesichtsfeld.

Untersuchung nach 4 Tagen.

Wir haben die Hauptuntersuchung etwas hinausgeschoben, um allfällige Differenzen deutlicher hervortreten zu lassen, namentlich aber auch, um Verzögerungen der Wirkung einzelner Reinkulturen, die infolge der Züchtung auf einem nicht gewohnten Medium sehr wohl denkbar waren, durch eine längere Entwickelungszeit auszugleichen.

Spontan: Beide Proben fielen durch die Armut der Flora auf. In der Probe a fanden sich fast keine Bakterien, mitunter

per Gesichtsfeld 1 oder 2 deutliche Stäbchen. Bei b traten neben seltenen kleinen Stäbchen vereinzelte große, unbewegliche von über 1 μ Dicke und 4—6 μ Länge auf.

Stäbchen allein: Alle 6 Proben sahen an der Oberfläche schlecht aus, indem sie mit zahlreichen Schimmelkolonieen in Form von Pusteln und Rasen besetzt waren, wovon einige bereits fruktifizierten. Der gelbliche, von oberflächlichem Bakterienwachstum herrührende Grundton, welcher die spontanen Teige kennzeichnete, fehlte hier. Im hängenden Tropfen wurden 3 Proben untersucht. Dieselben zeigten übereinstimmend ziemlich zahlreiche, per Gesichtsfeld 10—20 Stäbchen, meist in Form von Doppelstäbchen, die eine Länge von im Mittel 3 μ hatten.

Hefe allein: Alle 3 Proben sahen vorzüglich aus, genau wie gleich alte Sauerteigproben, die aus dem gleichen Mehl mit Sauerteig bereitet worden waren. Auf Teig mit Hefe aus S.T. III fanden sich in großer Zahl feine, farblose oder etwas gelbliche Tröpfchen, welche beim Berühren mit der Nadel sehr feine Fäden zogen. Es handelte sich um Kolonieen, die aus beweglichen Kurzstäbchen bestanden. Auf Teigen mit Hefe S.T. I und S.T. II waren sie spärlich.

Das Innere der Teigmassen mit Hefe S.T. I und S.T. II war scheinbar frei von Bakterien, doch kann eine direkte Untersuchung bei ungleichmäßiger Verteilung allfällig vorhandener Arten leicht zu Fehlschlüssen führen, wie aus dem Ergebnis der Plattenkulturen weiter unten zu ersehen ist. Bei H.S.T. III zeigten sich an einer untersuchten Stelle zahlreiche unbewegliche Stäbchen von Levans-Gestalt, an einer anderen Stelle hingegen nur vereinzelte, in vielen Gesichtsfeldern gar keine Stäbchen.

Hefe + Stäbchen. H.S.T. I + St.P.T. 6. Im h. Tr. sehr an typischen Sauerteig erinnernd. Stäbchen fehlten nie, meist waren im Gesichtsfeld etwa 10 Stück zu zählen, mitunter auch mehr und zwar viele von ihnen ansehnlich groß, 3—4 μ, ausnahmsweise 5 μ lang und mindestens $^3/_4$ μ dick.

H.S.T. I + St.S.T. 4. Im h. Tr. Stäbchen spärlicher, meist nur 5 bis höchstens 10 per Gesichtsfeld. Gewöhnlich waren sie kurz, nur selten 3 μ lang, die kürzeren gewöhnlich als Doppelstäbchen.

H.S.T. II + St.S.T. 2. Stäbchen sehr zahlreich, per Gesichtsfeld eher 20 als nur 10. Gewöhnlich zu zweien, an Teilungsstadien von Levans erinnernd, wohl auch an längere lactis acidi ohne Spitzchen. Auffallend war das nicht seltene Vorkommen von 3- oder 4-gliedrigen Kettchen mit verhältnismäßig kurzen Gliedern. Diese Kettchen erinnerten sehr an gewisse Wuchsformen der Sauerteigstäbchen.

H.S.T. II + St.P.T. 5. Das Bild entsprach ganz demjenigen von Sauerteig; meist mit Leichtigkeit 20 Stäbchen im Gesichtsfeld zu zählen. Einzel- und Doppelstäbchen, auch Kettchen mit 3 bis 4 kurzen Gliedern.

H.S.T. III + St.S.T. 1. Ziemlich zahlreiche Stäbchen, meist mit Leichtigkeit 10—20 im Gesichtsfeld zu zählen. Einzel- und Doppelstäbchen und nicht selten Kettchen mit 3—4 kurzen Gliedern.

H. S. T. III + St. S. T. 3. Stäbchen etwas spärlich, immerhin auf jedem Gesichtsfeld 5—10 zu zählen, meist als Doppelstäbchen, etwas kurz und ziemlich dick, $^3/_4$—1 μ. Auch Kettchen von 3 bis 4 Gliedern.

Der Gesamteindruck sämmtlicher Teige mit Hefe + Stäbchen war ein vorzüglicher, auf der Oberfläche war nirgends eine Spur von Veränderung wahrzunehmen.

Prüfung auf Säurebildung.

Zu gleicher Zeit, also 4 Tage nach der Herstellung, wurden sämtliche Teige auf die Menge der gebildeten Säure geprüft. Das Verfahren war folgendes: 20 g Teig wurden mit 75 ccm destilliertem Wasser verrieben. Dazu kam 1 ccm 2-proz. Phenolphtaleïnlösung und diese Flüssigkeit wurde mit $^1/_4$ n-NaOH titriert. Zwischen den Teigen machten sich schon vor der Titrierung Unterschiede im Geruch, Geschmack und in der Konsistenz geltend. Beide spontanen Proben hatten einen schwachen Geruch nach Buttersäure, diejenigen mit Hefe hingegen entwickelten einen angenehmen obstartigen Geruch, der bei den Teigen mit Hefe + Stäbchen noch kräftiger schien. Der Teig mit Hefe allein schmeckte unangenehm fade, während derjenige, der neben Hefe noch Stäbchen erhalten hatte, stark sauer, zum Teil sogar sehr stark sauer war. Dasselbe war der Fall bei nur mit Stäbchen geimpften Proben. Die Teige mit Stäbchen waren alle sehr elastisch, scheinbar feuchter als die Hefeteige. Diejenigen mit Hefe allein waren besonders trocken und „kurz“ und ließen sich nur schwer im Wasser zerteilen.

Die folgende Tabelle giebt die direkt erhaltenen und die auf 100 g Teig und Normallauge umgerechneten Werte.

Art des untersuchten Teiges	20 g Teig erforderten ccm $^1/_4$ n-Lauge	100 g Teig erforderten ccm n-Lauge
Teig aus Mehl und Wasser unmittelbar nach der Herstellung a	1,2	1,5
Teig aus Mehl und Wasser unmittelbar nach der Herstellung b	1,4	1,75
Spontan gegorener Teig a	2,4	3,0
„ „ „ b	2,8	3,5
Teig + Hefe S.T. I	1,2	1,5
„ + Hefe S.T. II	3,2	4,0
„ + Hefe S.T. III	2,8	3,5
„ + Stäbchen S.T. 1	8,0	10,0
„ + Stäbchen S.T. 2	8,0	10,0
„ + Stäbchen S.T. 3	7,6	9,5
„ + Stäbchen S.T. 4	7,6	9,5
„ + Stäbchen P.T. 5	8,4	10,5
„ + Stäbchen P.T. 6	8,0	10,0
„ + Hefe S.T. I + Stäbchen S.T. 4	3,2	4,0
„ + Hefe S.T. I + Stäbchen P.T. 6	4,0	4,0
„ + Hefe S.T. II + Stäbchen S.T. 2	8,4	10,5
„ + Hefe S.T. II + Stäbchen P.T. 5	9,2	11,5
„ + Hefe S.T. III + Stäbchen S.T. 3	10,0	12,5
„ + Hefe S.T. III + Stäbchen S.T. 1	9,2	11,5

Nach 2 Tagen wurden die Teige noch einmal titriert, meistens war eine Säurezunahme nicht eingetreten oder doch nur in unbedeutendem Maße. Allem Anscheine nach war schon am 4. Tage so ziemlich das Maximum erreicht gewesen. Auch nachdem die Teige noch einige Tage im Brutschranke gehalten waren, hatte sich die Säuremenge nicht vermehrt.

Aus obiger Zahlenreihe springt vor allem folgendes in die Augen: Die regelmäßig im Sauerteig und im Preßhefeteig in großer Menge auftretenden Stäbchen wirken hier als kräftige Säurebildner.

Auffallen muß das Verhalten der Stäbchen, die zusammen mit Hefe I eingeimpft wurden. Da die Stäbchen allein viel Säure erzeugten, so kann die relativ geringe Menge, die sie neben der Hefe bildeten, nur auf eine Beeinflussung durch letztere zurückgeführt werden. Diese Heferasse hatte sich nun als eine besonders gärkräftige erwiesen, darin liegt vielleicht die Erklärung für das etwas abnormale Verhalten des Gemisches von Hefe und Säurestäbchen. Man kann sich vorstellen, daß die sehr gär- und vermehrungskräftige Hefe die gärfähigen Substanzen des Mehles schnell an sich gerissen und so den ohnehin vielleicht etwas geschwächten Bakterien nur in geringem Maße Material für die Milchsäurebildung übrig gelassen hat. Diese Annahme scheint uns den Fall mindestens so gut zu erklären als eine andere, die herangezogen werden könnte und die auf der Möglichkeit einer Zerstörung gebildeter Säure durch Hefe beruht, wie sie z. B. durch E. Kayser[1]) nachgwiesen worden ist.

Etwas auffallend ist auch das Verhalten der 3 Proben, die mit Hefe allein geimpft waren. Hefe I stellt einen Fall dar, wo überhaupt keine Säure gebildet worden ist. Thatsächlich wird sich die Sache so verhalten haben, daß bei allen 3 Proben die eingeimpfte Hefe keine Säure produzierte. Die Proben mit Hefe II und III verdanken ihren Säuregehalt der Anwesenheit säurebildender Bakterien aus dem Mehl, welche Gelegenheit hatten, sich zu vermehren, während die Hefe I hier ebenfalls einen der Säurebildung hinderlichen Einfluß ausgeübt hat.

Bemerkenswert ist auch die Thatsache, daß der Säuregehalt der spontan gärenden Proben weit zurücksteht hinter demjenigen der mit Stäbchen geimpften Teige.

In noch höherem Maße als das äußere Aussehen und die direkte mikroskopische Untersuchung konnten bakteriologische Analysen der verschiedenen Teigproben über die Bedeutung und Verteilung der einzelnen Organismen Auskunft geben. Besonders war es interessant, zu wissen, in welchem Grade durch die eingeimpften Reinkulturen die im Mehl und Wasser schon vorhandenen Arten unterdrückt worden waren.

Zu diesem Zwecke wurden von sämtlichen Teigen Gelatineplatten besät und Kulturen in hoher Schicht in Molkenagar angelegt, da sich früher herausgestellt hatte, daß die Sauerteigstäbchen in Molken-

1) Kayser, E., Nutrition intercellulaire des levures. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XIV. 1900.)

agar eher besser wuchsen als in Dextroseagar. Mit sterilem Nickellöffel wurde die oberste, hautartige, bei einzelnen Kulturen verschimmelte Decke weggenommen, die innere Partie freigelegt, daraus mit steriler großer Platinöse eine ungefähr hanfkorngroße Menge des Teiges in 10 ccm im Probiergläschen befindlichen sterilen Wassers übertragen und darin so gut als möglich zerteilt. Von dieser Aufschwemmung kam nach kräftigem Umschütteln für die Plattenaussaaten je $^1/_{10}$ ccm mit steriler Pipette in ein Gläschen mit geschmolzener Gelatine und daraus 1 große Oese für eine zweite Verdünnung in ein weiteres Gelatinegläschen. Für die Kulturen in hoher Schicht in Molkenagar wurde direkt 1 große Oese der Aufschwemmung in ein erstes Molkenagargläschen von 42^0 übertragen und daraus eine eben solche Oese in ein zweites Gläschen geimpft.

Wir unterlassen es, die bei der mikroskopischen Untersuchung der 34 Platten und eben so vielen Kulturen in hoher Schicht erhaltenen Ergebnisse im einzelnen wiederzugeben und begnügen uns mit einer zusammenfassenden Darstellung der wesentlichsten Punkte.

a) Spontane Gärung. Die in 4 Tage altem Teig vorhandenen Organismen bestanden in Uebereinstimmung mit früheren Befunden vorwiegend aus dem „weißen" (Bact. levans) und aus dem „gelben" Gasbildner. Letzterer war in bedeutend überwiegender Zahl vorhanden. Neben diesen Arten waren auch nicht gasbildende Milchsäurebakterien vom Typus des Bact. lactis acidi zu finden. Weitere Arten waren nicht vorhanden, mit Ausnahme des früher erwähnten „zooglöenbildenden" Stäbchens, Hefe fehlte vollständig.

Das hier beobachtete, im Vergleich zu den Hefeteigen bedeutend verspätete und schwächere Aufgehen der Teige war also nur auf die Thätigkeit der beiden gasbildenden Bakterienarten, die in der Tabelle verzeichnete Säuremenge auf diese letzteren, sowie auf die lactis acidi-ähnlichen Stäbchen zurückzuführen.

b) Stäbchen allein. Sämtliche Proben dieser Art ließen die eingeimpften Stäbchen durch das Mittel der angewendeten Kulturen in großer Zahl erkennen. Bezüglich des Wachstums auf den Gelatineplatten bestand zwischen den aus Sauerteig und den aus Preßhefeteig stammenden Stäbchen kein Unterschied. Außer den eingeimpften und offenbar in ausgiebigem Maße zur Vermehrung gelangten Stäbchen fanden sich nur noch solche, die dem Bact. lactis acidi nahe standen, in nennenswerter, wenn auch untergeordneter Menge. Von den beiden, im spontanen Teig aufgetretenen gasbildenden Bakterien war in keiner der 12 Kulturen eine Kolonie zu finden. Ebenso fehlten Hefekolonieen vollständig.

Der Umstand, daß alle diese Teige nicht gegangen waren, erklärt sich einfach aus der Abwesenheit jeglicher gasbildender Organismen. Die aus der Tabelle ersichtliche sehr beträchtliche Säureproduktion ist ganz vorwiegend das Werk der eingeimpften Stäbchen, denn da, wo diese fehlten, wurde in der Regel mindestens 3mal weniger Säure gefunden.

c) Hefen allein. In allen 3 Teigproben waren die Hefen mit Hilfe der Gelatineplatten, nicht aber mittels der Kulturen in hoher Schicht leicht nachzuweisen. Sie fanden sich aber nicht etwa in Reinkultur, sondern sämtliche Typen von Bakterien, die wir aus den spontan gärenden Teigen züchten konnten, waren auch hier vertreten, wenn auch nicht in gleicher Kolonieenzahl. Am reinsten war die Hefe in der Probe H I, d. h. hier traten die Bakterien gegen die Hefe am stärksten zurück. Damit steht im Einklang der ausnahmsweise niedrige Säuregehalt der betreffenden Probe. Die übrigen beiden Hefestämme haben das Aufkommen der Bakterien des Mehles nicht in gleichem Maße hindern können, daher der größere Säuregehalt des Teiges.

Das normale und schnelle Aufgehen des Teiges ist hier wohl ausschließlich auf die eingeimpften Hefen zurückzuführen, der in 2 Fällen beobachtete nicht unbedeutende Säuregehalt auf die Thätigkeit der zur Entwickelung gelangten säurebildenden Bakterien.

d) Stäbchen und Hefen zusammen. Die Kulturen haben genau das ergeben, was auf Grund der bei b und c gemachten Erfahrungen zu erwarten war. Die eingeimpften Stäbchen und Hefen waren in großer Menge zugegen, was daneben noch zur Entwickelung gekommen war, erwies sich als identisch oder wenigstens verwandt mit dem Bact. lactis acidi. Die gasbildenden Bakterien des Mehles waren bei allen 6 Teigen dieser Art in keinem einzigen Exemplar vertreten. Das Aufgehen des Teiges ist ausschließlich auf die Thätigkeit der eingeimpften Hefe, die Säureproduktion auf die Thätigkeit der eingeimpften Stäbchen in erster Linie, auf diejenigen der nicht gasbildenden, im Mehl spontan auftretenden Milchsäurebakterien in zweiter Linie zurückzuführen.

Das eigentümliche Ergebnis bezüglich der Säureproduktion der Kombinationen mit Hefe I fand in den Kulturen seinen Ausdruck darin, daß bei diesen Proben die Zahl der Säurestäbchenkolonieen im Verhältnis zu den Hefekolonieen am geringsten war.

Diese größere, mit Reinkulturen und nicht sterilisiertem Mehl ausgeführte Versuchsreihe hat also zu Resultaten geführt, die an Deutlichkeit nichts zu wünschen übrig lassen. Besonders haben die mit den 4 Tage alten Teigproben angelegten Gelatineplattenkulturen eine wertvolle Bestätigung der Befunde ergeben, die schon durch das äußere Aussehen und das Bild aus dem Inneren des Teiges bei Untersuchung im hängenden Tropfen erhalten worden waren.

Auf einige Meter Entfernung unterschieden sich die Platten, welche aus Teigproben mit eingeimpften Säurestäbchen stammten, von sämtlichen übrigen Platten. Während die ersteren nur mehr oder weniger punktförmige Kolonieen enthielten, waren die letzteren, gleichviel, ob sie Hefe enthielten oder nicht, mit flächenartig ausgebreiteten Kolonieen, die vorwiegend den fakultativ anaëroben Gasbildnern angehörten, besetzt. Was schon aus anderen Versuchen geschlossen werden konnte, hat sich neuerdings gezeigt:

Die Ursache, daß die gasbildenden Bakterien des Mehles im Sauerteig nicht aufkommen können, liegt nicht in der Hefe, sondern in den Milchsäurebakterien des Sauerteiges.

Diese Milchsäurebakterien gestatten eine Entwickelung nur solchen aus dem Mehl stammenden Arten, die selber Milchsäure entwickeln und in größerer Menge ertragen können [1]). Im Sauerteig geschieht die Unterdrückung der gasbildenden Säurebakterien und überhaupt aller nicht zu den echten Milchsäurebakterien gehörenden Bakterien so rasch und gründlich, daß man geneigt sein könnte, nicht nur an eine Wirkung der Säure an und für sich, sondern an eine spezifische, vielleicht auf der stereochemisch eigentümlichen Beschaffenheit der Milchsäure beruhende keimvernichtende Kraft zu denken.

In praktischer Hinsicht bedeutet dieses Ueberhandnehmen einer reinen Milchsäuregärung im aufbewahrten Teig einen Schutz desselben vor Zersetzungserscheinungen verschiedener Art, unter welchen namentlich die Bildung von Buttersäure und anderen unangenehm riechenden und schmeckenden flüchtigen Säuren hervorzuheben ist. Aber auch basische Körper, speziell verschiedene Amine gehören zu den Stoffwechselprodukten gerade derjenigen Bakterien (z. B. Bact. levans), welche in Gegenwart der Milchsäurebakterien des Teiges nicht aufkommen können.

Die im Sauerteig und auch im Preßhefeteig regelmäßig auftretende Milchsäuregärung bewahrt denselben vor anderen, mit der Entwickelung von unangenehmen oder sogar schädlichen Stoffen verbundenen Bakteriengärungen.

Da, wo es sich um längere Aufbewahrung des Stammteiges oder um Brotbereitung unter Verwendung relativ lange gelagerten (gesäuerten) Teiges handelt, ist diese schützende Wirkung der Milchsäuregärung von größter Wichtigkeit.

Ein Teig, der aufbewahrt werden soll, ist aber auch nach anderer Richtung hin dem Angriff von Mikroorganismen ausgesetzt: Es liegt die Möglichkeit vor, daß er verschimmelt. Kein Mehl ist frei von Schimmelsporen und kein Teig kann dauernd vor dem Zutritt derselben behütet werden. Ein normaler Teig, Sauerteig oder Preßhefeteig schimmelt aber nie. Welches ist der Faktor, der nach dieser Richtung konservierend wirkt? Die Milchsäuregärung ist es nicht. Weiter oben wurde erwähnt, daß nach 4 Tagen alle mit Säurestäbchen allein geimpften Teigproben an der Oberfläche Schimmelrasen trugen. Schneller und üppiger waren diese allerdings auf den spontan gärenden Proben aufgetreten. Noch

1) Nach frdl. Mitteilung von R. Burri bildet auch diese für den Sauerteig konstatierte Thatsache nur einen speziellen Fall einer in der Natur allgemeinen Erscheinung. Wo zuckerhaltige Medien einer Milchsäuregärung anheimfallen, treten in der Regel gleichzeitig gasbildende und nicht gasbildende Säurebildner in Konkurrenz. Die letzteren verdrängen die ersteren gewöhnlich nach kurzer Zeit. So ist dies der Fall bei gärendem Grünfutter, ferner bei den Gärungen, die als „Käseblähung" bezeichnet werden.

deutlicher traten die Unterschiede hervor, als die Proben ein Alter von 8 Tagen hatten. Sie boten jetzt folgendes Bild: Die spontan gegorenen und die Proben mit „Stäbchen allein" trugen einen buntgefärbten, fruktifizierenden, aus mehreren Arten bestehenden Schimmelpelz und hatten einen entsprechenden Geruch. Die Proben mit „Hefe allein", sowie die mit „Hefe und Stäbchen" zeigten keine Spur von Schimmel und hatten einen angenehmen, obstartigen Geruch.

Die Funktion der Hefe im Teig besteht nicht nur darin, das Aufgehen desselben mit Hilfe der alkoholischen Gärung zu bewirken, sondern auch darin, den gegorenen Teig bei der Aufbewahrung vor der Zerstörung durch Schimmelpilze zu schützen.

Ob nun dabei die durch die Hefe allein erzeugten Produkte diesen Einfluß auf die Schimmelpilze auszuüben vermögen, oder ob es Reaktionsprodukte des Alkohols und der durch säurebildende Bakterien (die ja bei unseren Versuchen nirgends ganz ausgeschlossen waren) gebildeten Säure sind, welche die Auskeimung der Schimmelsporen verhindern, müßte durch besondere Versuche festgestellt werden. Wir haben nur nachgewiesen, daß bei allen Proben, wo Hefe fehlt, reichlich Schimmelbildung eintrat, daß solche aber überall, wo Hefe thätig war, vollständig ausblieb. Dieses gilt nicht nur für die vorliegende Versuchsserie, sondern für all die vielen Teigproben, die wir im Laufe unserer Untersuchungen zu beobachten Gelegenheit hatten.

Am Schlusse unserer Ausführungen angelangt, glauben wir zu der Aeußerung berechtigt zu sein, daß die Frage der Brotteiggärung, speziell was die Natur der bei derselben beteiligten Organismen anbetrifft, in ihren wichtigsten Punkten endlich in befriedigender Weise aufgeklärt ist. Im großen ganzen haben wir die Ansichten derjenigen älteren Autoren, welche in der Brotgärung eine reine Alkoholgärung erblickten, bestätigen können, wenn auch andererseits die Rolle der im Teig, speciell im Sauerteig auftretenden Bakterien durch unsere Untersuchungen in ein ganz anderes Licht gerückt worden ist. Diese Bakterien sind überhaupt bis jetzt noch von keinem der zahlreichen Autoren, die sich mit den Mikroorganismen des Sauerteiges beschäftigt haben, rein gezüchtet worden, weil sämtliche es unterlassen haben, anaërobe Isolierungsmethoden anzuwenden. Eine Ausnahme macht Popoff[1]), der mit anaëroben Platten arbeitete und offenbar unsere typischen Sauerteigstäbchen in Händen hatte. Leider sind die Versuche, die dieser Forscher mit seinem Säurebildner ausführte, nicht geeignet, einen Aufschluß über die Rolle zu geben, welche derselbe im Teige spielt. Nach Popoff variiert sein Stäbchen sehr in den Dimensionen, bildet Doppelstäbchen und Ketten von kurzen Gliedern, welche sogar breiter als lang sein können. Gelatineplattenkolonieen sind kaum sichtbar, weißlich; auf Kartoffeln ist das Wachstum nur mit Mühe

1) Popoff, Sur un bacille anaérobic de la fermentation panaire. (Annales de l'Institut Pasteur. T. IV. 1890.)

zu erkennen. In Zuckerbouillon bildet sich ein weißer, stärkeartiger Bodenbelag. Gelatine wird nicht verflüssigt, Sporen treten nicht auf. Alles das stimmt voll und ganz auch auf unser Stäbchen. Nun schreibt aber Popoff wörtlich: „Il donne de l'acide lactique, peut-être d'autres acides et des gas qui n'ont pas été analysés." Dem Teige eingeimpft, erzeugte das Stäbchen von Popoff alle gewöhnlichen Erscheinungen der Brotgärung. Zugegeben, daß die Gärung im Teige, der nicht sterilisiert war, auch ohnehin erfolgt wäre durch die Thätigkeit des Bact. levans und des „gelben" Gasbildners, so hätte sie beim Einimpfen unseres Stäbchens gerade unterbleiben müssen. Wenn Popoff das gleiche Stäbchen wie wir isolierte, was nach obigen Angaben ziemlich wahrscheinlich ist, so muß derselbe beim weiteren Experimentieren infolge Verunreinigung oder Verwechselung der Kulturen in schwere Irrtümer verfallen sein, sonst hätte er niemals zu so merkwürdigen Ergebnissen gelangen können.

Zusammenfassung.

Die Resultate unserer Arbeit lassen sich in folgende Schlußsätze zusammenfassen:

1) Im spontan gärenden, aus Mehl und Wasser bereiteten Teige sind in der Regel **zwei** gasbildende Bakterienarten als Ursache des Aufgehens thätig. Die eine derselben, farblose Kolonieen bildende, ist identisch mit dem Bact. levans (Lehmann und Wolffin), während die andere, gelbe Kolonieen bildende, vorläufig als neu anzusehen ist.

2) Das Bact. levans ist nicht identisch mit dem Bact. coli, sondern läßt sich ohne Schwierigkeit von demselben unterscheiden und zwar: a) durch die Verflüssigung der Gelatine; b) durch die Zusammensetzung des bei der Zuckergärung gebildeten Gases. Weniger zuverlässige Unterscheidungsmerkmale bilden das Aussehen der Gelatineplattenkolonieen und die Intensität und Art der Beweglichkeit.

3) Bei der Teiggärung, welche durch Sauerteig oder Preßhefe eingeleitet wird, spielen gasbildende Bakterien weder bezüglich des Aufgehens noch sonstwie eine Rolle. Das Aufgehen ist einzig und allein auf die durch die Hefe hervorgerufene alkoholische Gärung, d. h. auf die dabei entstehende Kohlensäure zurückzuführen.

4) Die in jedem Sauerteig in ungeheurer Zahl sich findenden Bakterien sind kräftige Milchsäurebildner, welche die bei der Vermehrung des Teiges durch Mehl und Wasser zugeführten Bakterien in kürzester Zeit vernichten. Verschont bleiben nur Bact. lactis acidi Leichm. und dessen nächste Verwandte. Diese sind eben selber Milchsäurebildner und gehören mit den spezifischen Stäbchen des Sauerteiges in dieselbe

Gruppe der echten Milchsäurebakterien, welche dadurch gekennzeichnet ist, daß ihre Vertreter aus Zucker keine Gase und überhaupt neben Milchsäure andere Produkte in nennenswerter Menge nicht bilden.

5) Die spezifischen Bakterien des Sauerteigs gehören der Untergruppe der langstäbchenförmigen, nicht gasbildenden Milchsäurebakterien an und stehen dem Bacillus acidificans longissimus Lafar (Bac. Delbrücki Leichm.) nahe. Stäbchen der gleichen Art ließen sich auch in großer Menge in sämtlichen daraufhin untersuchten Preßhefeteigen finden.

6) Zwischen Sauerteig und Preßhefeteig besteht bezüglich der bei der Gärung beteiligten Organismen kein Unterschied. In beiden Teigen ist die Hefe das ausschließlich lockernde Agens; in beiden beginnt schon gleichzeitig mit der Vermehrung und Thätigkeit der Hefe auch eine Vermehrung der Milchsäurebakterien. Ob viel oder wenig Säure in das Brot gelangt, hängt ganz von der Behandlung des Teiges, speziell von der Dauer der Teiggärung ab.

7) Die Rolle der beiden in Sauerteig oder Preßhefeteig sich findenden Organismen läßt sich folgendermaßen charakterisieren: Der Hefe allein fällt die Aufgabe zu, durch Entwickelung von Kohlensäure und Alkohol die Masse des Teiges zu lockern, das Volumen zu vergrößern. Die Milchsäurebakterien sorgen dafür, daß die alkoholische Gärung nicht von unangenehmen Nebengärungen, wie sie z. B. Buttersäurebakterien oder Bakterien aus der Coli-Gruppe auslösen, begleitet wird. Hefe und Milchsäurebakterien wirken bei der Aufbewahrung des aufgegangenen Teiges konservierend; die Hefe, indem sie Schimmelpilzentwickelung verhindert, die Milchsäurebakterien, indem sie keiner anderen Bakterienart aufzukommen gestatten.

Um noch kurz die praktische Seite der behandelten Frage zu streifen, könnte zunächst darauf hingewiesen werden, daß die Anwendung der Preßhefe mehr und mehr im Begriffe ist, die früher allgemein übliche Verwendung von Sauerteig zu verdrängen. Namentlich in den größeren Städten hat sich die Preßhefe in den Bäckereien allgemein eingebürgert. Wenn auch, wie aus den Schlußsätzen 6 und 7 zu entnehmen ist, im biologischen Sinne zwischen Sauerteig und Preßhefeteig kein prinzipieller Unterschied besteht, so liegen doch die Verhältnisse, wenn man die praktische Anwendung ins Auge faßt, bei beiden Teigarten verschieden. Der Preßhefeteig, der bei seiner Herstellung gewissermaßen mit einem Ueberschuß gärungstüchtiger Hefezellen versehen wird, geht in kürzerer Zeit auf als der Sauerteig, der nur mit einer beschränkten Zahl von Hefezellen arbeitet, die eine gewisse, durch die im Teig ge-

botenen Entwickelungsbedingungen gezogene Grenze niemals überschreitet. Das bedeutet für einen Betrieb, wo im Tage mehrmals gebacken wird, eine bedeutende Zeitersparnis. Für Bauernhäuser, wo vielleicht nur jede Woche oder noch seltener gebacken wird, scheint dieser Umstand auf den ersten Blick allerdings keine Rolle zu spielen. Doch bringt die Sauerteigverwendung es hier mit sich, daß die längere Zeit gelagerte Probe bei der Vermehrung weniger rasch arbeitet als der Vermehrungsteig einer Bäckerei, der sich sozusagen in kontinuierlicher Gärung befindet. Auf diesen Umstand ist wohl die Thatsache zurückzuführen, daß auch in Bauernhäusern die Preßhefe vielfach Eingang gefunden hat. Für Gegenden, wo bei der Teigbereitung eine primitive Arbeitsweise üblich ist, kann man die Einführung der Preßhefe nur begrüßen, indem bei Verwendung derselben der Herstellung von übermäßig säurehaltigem Brot vorgebeugt wird. Es ist ja klar, daß im allgemeinen bei Verwendung von Sauerteig, namentlich dann, wenn eine gewisse Volumenvergrößerung mehr durch längeres Liegenlassen als durch intensives Durchkneten und häufiges Auffrischen angestrebt wird, infolge des anfänglichen großen Gehaltes an leistungsfähigen Milchsäurestäbchen mehr Säure gebildet wird, als bei Anwendung der schnell treibenden Preßhefe. Daß bei geeigneter Behandlung des Sauerteiges auch mit diesem gut gelockerte, säurearme Teige erhalten werden, beweisen, wie früher schon erwähnt, die säurearmen, mit Sauerteig bereiteten Schweizerbrote.

Die Preßhefe erfreut sich bei den Bäckern auch aus dem Grunde einer größeren Beliebtheit, weil sie Gebäcke mit möglichst weißer Krume liefert. Für feine Weißbrote wird daher auch da häufig Preßhefe verwendet, wo sonst Sauerteig das übliche Gärungsmittel bildet. Andererseits ist bei Preßhefeteig die Lockerung eine so rasche und intensive, daß der ganze Teig von zahllosen feinsten Gasbläschen durchsetzt ist. Auf der Schnittfläche trocknet ein solches Brot leichter aus als ein mit Sauerteig bereitetes. Dieser Umstand wird mit Recht als Nachteil empfunden und bildet für viele Bäckereien auf dem Lande, die mit bäuerlicher Kundsame zu rechnen haben, einen Grund, die Preßhefe für die gewöhnliche Brotbereitung nicht zu verwenden.

Vorliegende Arbeit wurde im landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des eidg. Polytechnikums in Zürich auf Veranlassung und unter Leitung des Vorstandes desselben, meines Freundes Dr. R. Burri, ausgeführt. Ich ergreife mit Vergnügen die Gelegenheit, demselben für die reichliche Unterstützung, die er mir dabei fortwährend zu teil werden ließ, den wärmsten Dank auszusprechen.

Ebenfalls zu Dank verpflichtet bin ich Herrn Dr. A. Maurizio, der mir in freundlichster Weise einen Teil der benutzten Litteratur zur Verfügung stellte.

Nachdruck verboten.

Versuche über die Verwesung pflanzlicher Stoffe.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Privatdocent Dr. **Oskar Bail**, Assistenten des Institutes[1]).

(Fortsetzung.)

Die Kohlensäurebildung ist, wie zu erwarten, bei diesem Prozesse eine ganz ansehnliche und giebt eine deutliche Vorstellung von den CO_2-Mengen, welche sich der Grundluft beimengen müssen, falls eine derartige Verwesung im Boden selbst stattfinden kann. Die quantitative Uebereinstimmung namentlich der Versuche Rh. a, Rh. 3, Rh. 4, Rh. 6, wo immer die gleiche Menge von Blättern unter den gleichen Bedingungen verweste, ist eine gute:

Tägliche CO_2-Produktion in ccm im wöchentlichen Durchschnitte.

	Rh. a	Rh. 3	Rh. 4	Rh. 6
1. Woche	20,97	22,21	20,80	23,80
2. „	21,71	21,23	24,24	21,04
3. „	21,77	20,86	20,46	20,37
4. „	23,11	22,30	21,36	21,67
5. „	21,60	20,00	20,00	—[2])
6. „	21,17	20,67		—
7. „	18,77			18,46
8. „	7,48			18,20
9. „	4,71			

Trotz der verminderten Zahl von Arten, welche in und auf den Blättern leben, fanden sich im wesentlichen doch die gleichen Leistungen durch die ganze Versuchsreihe hindurch. Aber auch dann, als im Ausgangsmaterial die Verwesung bereits beendet war und eine CO_2-Entbindung nicht mehr stattfand, enthielt dasselbe noch alle die Faktoren, welche frische Blätter zur Verwesung brachten:

CO_2-Produktion in ccm im wöchentlichen Durchschnitte.

	Rh. I b (50 g Blätter)	Rh. 5 (100 g Blätter)
1. Woche	16,14	21,20
2. „	16,78	22,51
3. „	16,46	21,81
4. „	14,69	21,86
5. „	13,70	20,37
6. „	11,26	14,71
7. „	6,46	12,85

Der fortlaufende bakteriologische Befund dieser Versuchsserien sei auszugsweise wiedergegeben.

1) Rh. a.

Das Impfmaterial enthielt über 1 Million Keime pro Oese

1) Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Litteratur in Böhmen.

2) Unterbrechung von 14 Tagen. Während dieser Zeit stand das Gefäß in der Kälte und war den größten Teil der Zeit hindurch eingefroren.

die sehr verschiedenen Arten angehören; darunter zahlreiche verflüssigende. Eine am Tage nach der Impfung entnommene Probe der am Grunde des Cylinders angesammelten Flüssigkeit ist gelbrot, kaum trüb, von stark saurer Reaktion und liefert etwa 3000 Bakterienkolonieen, 3 Arten angehörig, von denen später nur eine noch auftritt (Bacillus β). Es finden sich weder Hefen noch Schimmelpilze.

Am 2. Tage ist die saure Flüssigkeit dicht, trübe und zeigt schon mikroskopisch große Mengen von Hefe und kurzen bis höchstens mittellangen, plumpen, oft in kurzen Ketten angeordneten Stäbchen. Die mit Rheum-Gelatine angelegten Plattenkulturen ergeben pro 1 Oese 37000 Kolonieen von Hefe, 20000 Kolonieen eines später als Bacillus α bezeichneten Stäbchens, 2500 Kolonieen von Bacillus β, der durch einen modrigen Geruch ausgezeichnet war und 120 verflüssigende des Bacillus γ, eines Angehörigen der Heubacillengruppe. Nach 4 Tagen fanden sich 70000 Hefen, 30000 Kolonieen von α, 70 von γ, 15 von β[1]. Nach 6 Tagen ist der Geruch von gekochten Rheum-Blättern in der Probe verschwunden. Kulturell lassen sich die verflüssigenden Bakterien vom Typus γ gar nicht mehr, die Kolonieen von β nur spärlich nachweisen, Hefen sind 17000 Kolonieen, von Bacillus α eine enorme Menge aufgegangen. In sehr geringer Zahl tritt ein später bei allen Proben verwester Rheum-Blätter gefundener Pilz auf.

Nach 8 Tagen ist der Befund im wesentlichen der gleiche, mit 12000 Hefen und 70000 Kolonieen des Bacillus α.

Nach 10 Tagen haben die bereits stark zusammengesunkenen Blätter einen eigenartigen Geruch angenommen, der etwas an den von ungebeizten Tabak erinnert. Die Flüssigkeit ist dicht trübe, reagiert sauer. Ausser den sehr reichlich vorhandenen Hefen, Bacillus α, weniger zahlreichen Bacillus β treten wieder verflüssigende Bakterien des Typus γ in größerer Zahl auf. Schimmelpilze sind sehr spärlich.

Nach 12 Tagen ist der „tabakartige“ Geruch der Blattmasse und der dicht trüben sauren Flüssigkeit sehr stark geworden. Kulturell überwiegt der Bacillus α weitaus. Hefen sind 20000 vorhanden. Auffallend ist, daß die vor kurzem so zahlreichen verflüssigenden Bakterien kaum zu finden sind, während eine neue Bakterienform in flachen, bläulichen, etwas coliähnlichen Kolonieen in ziemlicher Zahl auftritt, um schon nach wenigen Tagen wieder vollständig zu verschwinden.

Das kulturelle Bild änderte sich zunächst nicht sehr. In Ueberzahl blieb immer Bacillus α und die Hefen. Der Befund des Typus β wechselte quantitativ sehr stark, die verflüssigenden Kolonieen konnten nicht recht aufkommen.

Vom 21. Tage an verminderte sich die Zahl der Hefen merklich, gleichzeitig wurde die Reaktion der am Grunde des Gefäßes angesammelten Flüssigkeit schwach sauer und die Zahl der verflüssigenden Kolonieen, sowie die der bisher nur spärlich auf-

---

1) Alle Zahlenangaben beziehen sich auf 1 Oese Flüssigkeit.

getretenen Schimmelpilze nahm zu. Sporadisch tauchten in geringer Zahl neue Formen auf, um aber bald wieder vollständig zu verschwinden.

Am 34. Tage war die Blattmasse stark rarefiziert, fast schwarz geworden. Die am Grunde des Cylinders angesammelte Flüssigkeit hatte an Menge entschieden zugenommen, war braunrot und trübe, von schwach saurer Reaktion. Eine genauere Bestimmung der Keimzahl wurde von jetzt an, wegen der rapid erfolgenden Verflüssigung der Platten durch Bacillus γ, unmöglich.

Vom 36. Tage an reagierte die Probe alkalisch, die Blätter sanken mehr und mehr zusammen und wurden schwarz und unkenntlich, der bisher sehr scharfe „tabakartige" Geruch wich einem modrigen. Der Bakterienreichtum betrug immer mindestens $1\frac{1}{2}$ Millionen Keime pro Oese Flüssigkeit. Hefe und die Schimmelpilze verschwanden vollständig, der Bacillus α wurde sehr spärlich, während der verflüssigende Typus γ das Feld beherrschte. Sonst hörte aber in diesem Stadium die Einheitlichkeit auf; es erschienen mehrfach neue Formen, die schon in der nächsten Serie nicht mehr zu finden waren. Längere Zeit hielt sich nur ein eigenartiger Mikroorganismus, der in flachen, blattartigen, trockenen Kolonieen wuchs, denen zahlreiche Sphärokrystalle von $CaCO_3$ aufgelagert waren.

Ueberdies trat wieder die Stäbchenform β reichlich auf, welche in Kulturen einen ausgesprochen modrigen Geruch, ganz dem der alkalisch gewordenen Blattmasee ähnlich, hervorbrachte.

Nach 58 Tagen, zur Zeit der Beendigung des Versuches, bildeten die Blattreste eine ganz unkenntliche, zusammengesunkene, fast schwarze, wo sie konstant in Flüssigkeit eingetaucht gewesen waren schwarzgrüne Masse. Flüssigkeit ließ sich in der Menge von 2 ccm abgießen. Sie war dicht trübe, schwarzbraun, roch stark modrig und reagierte relativ stark alkalisch.

Von den Organismenformen, welche anfangs geherrscht hatten, fanden sich noch α, die Hefe und der Schimmelpilz, sämtlich in geringer Zahl, β war verschwunden, γ in nicht zu bestimmender, jedenfalls aber sehr großer Menge. Sonst war das Vegetationsbild sehr mannigfach geworden und es hätten ohne Schwierigkeit mindestens 10 verschiedene Arten isoliert werden können.

Die aus diesem Versuche abgeleiteten Ueberimpfungen wurden meist nur bis zu der Zeit fortgeführt, wo die saure Reaktion der Blattmasse ins Alkalische überschlug. Denn offenbar bezeichnet dieser Moment einen entscheidenden Wendepunkt in der Mineralisierung der verwesenden Pflanzensubstanz. Der dabei entstehende Artenreichtum der Flora zeigt, daß nunmehr alle möglichen Spaltpilze sich energisch an der vollständigen Mineralisierung beteiligen können, während alles andere gewissermaßen nur Vorarbeiten sind. Bei diesen war aber am ehesten eine Einheitlichkeit zu erwarten.

2) Rh. 3.

Am 21. Tage der Verwesung der Probe Rh. a wurden 100 g sterilisierter Rheum-Blätter geimpft. Die zur Impfung verwendete

stark „tabakartig“ riechende, dicht trübe, gelbrote Flüssigkeit von schwach saurer Reaktion enthielt überaus zahlreiche Keime, darunter vorwiegend Hefe, α, wenig β, zahlreiche Individuen von γ, wenig Schimmelpilze, sowie in wenigen Exemplaren die oben erwähnte, etwas coliähnlich wachsende, sporadische Stäbchenform.

Am Tage nach der Impfung war die am Grunde des Cylinders angesammelte Flüssigkeit kaum getrübt, gelbrot, stark sauer; die Blätter zeigten ihren ursprünglichen Geruch. Von der Unzahl der eingeimpften Keime (es war fast 1 ccm Flüssigkeit zur Impfung verwendet worden, von einem relativen Keimgehalt von ca. 1 Million pro Oese) sind nur 2 Formen angegangen und zwar 15000 Hefen und 2000 Bacillen, entsprechend dem in der vorigen Versuchsserie gefundenen Typus α.

Am 3. Tage ist die angesammelte, saure Flüssigkeit bereits dicht trübe und läßt schon mikroskopisch zahlreiche Hefen und die kurzen bis mittellangen, ziemlich plumpen, oft zu Ketten aneinandergereihten Stäbchen des Typus α erkennen. Kulturell 70000 Hefe [1]) und mindestens ebensoviele Kolonieen des Typus α.

Am 5. Tage ist bereits ein gewisses Zusammensinken der Blätter zu bemerken. Die unten angesammelte saure Flüssigkeit ist trübe, zeigt mikroskopisch das gleiche Bild wie früher und enthält neben den frühen Formen (pro Oese 60000 Hefen, 90000 Bacillus α) noch 2 Mycelien des in der Serie Rh. a gefundenen Pilzes.

Am 7. Tage ist ein deutlich „tabakartiger“ Geruch vorhanden. Kulturell 52000 Hefen, 12000 Bacillus α, einige wenige Mycelien.

Am 9. Tage ist das Zusammensinken der Blattmasse, an welcher keine Spur einer Pilzwucherung zu bemerken ist, sehr deutlich geworden. Dabei ist die gelbrote, stark trübe, saure Flüssigkeit am Grunde des Cylinders entschieden vermehrt. Bei mikroskopisch den früheren Befunden entsprechendem Bilde, ergiebt die Kultur: 12000 Hefe, 80000 Kolonieen von Bacillus α, 150 Pilzmycelien.

Am 11. Tage qualitativ der gleiche Befund, nur fehlt der Schimmelpilz diesmal ganz: 20000 Hefen, etwas mehr Kolonieen von α.

Am 13. Tage ist bei starker Vermehrung der dicklichen, trüben, sauren Flüssigkeit die Rarefaktion der Blätter weit vorgeschritten.

Mikroskopischer und kultureller Befund wie bisher: 30200 Hefen, 50000 Kolonieen von Bacillus α, keine Mycelien.

Am 15. Tage erst verändert sich die Flora, wobei sicher auch die saure Reaktion schwächer als bisher geworden ist. Es treten nämlich verflüssigende Kolonieen auf, deren Zahl nicht mehr genau zu bestimmen war, weil die Platten zu spät, bei schon vorgeschrittener Verflüssigung der Gelatine untersucht wurden. Groß ist die Zahl derselben jedenfalls noch nicht gewesen.

Am 17. Tage hat die Rarefaktion und das Zusammensinken der Blätter große Fortschritte gemacht. Die stark „tabakartig“

1) Bei der kurzen, bloß die Hefen betreffenden Mitteilung dieses Versuches im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. VIII. p. 572 ist eine fehlerhafte Angabe des Datums unterlaufen. Es soll statt 2., 4., 6. etc. Tag richtig 3., 5., 7. etc. heißen.

riechende, dickliche, schwach saure Flüssigkeit liefert 10000 Hefen, 15000 Bacillus α, wenige Pilzmycelien, ca. 1000 verflüssigende Kolonieen vom Typus γ der früheren Serie Rh. a. Das Auftreten der letzteren macht sich bereits mikroskopisch bemerklich.

Die Untersuchungen finden von da an, an jedem 3. Tage statt.

Am 20. Tage ist der Geruch der nur noch sehr schwach sauren Flüssigkeit scharf „tabakartig" geworden. Mikroskopisch sind Stäbchen weitaus in Ueberzahl über Hefen. Kulturell ist ein sehr bedeutendes Ansteigen der verflüssigenden Bakterien vom Typus γ zu verzeichnen, so daß Zahlenangaben nurmehr den Wert einer annähernden Schätzung beanspruchen dürfen. Danach finden sich 12000 Hefen, 10000 Bacillus α, ungefähr ebenso viele verflüssigende vom Typus γ, keine Schimmelpilze, aber in ziemlicher Zahl Zahl eine neue, nicht verflüssigende Form, welche derjenigen entspricht, welche in der Serie Rh. a. als Typus β den eigenartig modrigen Geruch der verwesenden Blätter erzeugt hatte; ein solcher ist übrigens im Cylinder noch nicht wahrzunehmen.

Nach 23 und 26 Tagen sind die Blattmassen ganz zusammengesunken, unkenntlich geworden, fast schwarz, von intensiv „tabakartigem" Geruch. Reaktion nur noch sehr schwach sauer. Kulturell steigt die Zahl der verflüssigenden und der den modrigen Geruch erregenden Stäbchen, während Hefe und Bacillus α rasch abnehmen. Sporadisch, um schon in den nächsten Tagen zu verschwinden, tritt ein Actinomyces, sowie ein in büschelförmigen Kolonieen wachsendes, langsam verflüssigendes Stäbchen auf.

Nach 29 Tagen ist der Bacillus α bereits selten geworden, Hefen sind zwar noch ohne Mühe zu finden, aber im Vergleich zu früher auch nur spärlich vorhanden.

Nach 32 Tagen tritt ein modriger Geruch auf und die Reaktion schlägt ins Alkalische um. Die Blätter sind am Grunde des Cylinders zu einer ganz unkenntlichen, tief dunkelgrünen bis fast schwarzen Masse zusammengesunken. Schimmelvegetation ist nirgends sichtbar. Die angesammelte Flüssigkeit (gegen früher stark vermehrt) ist tiefbraun, reichlich mit Gewebsfetzen erfüllt. Kulturell lassen sich aus der Flüssigkeit wenige Hefen und Schimmelpilze, keine Kolonieen des Typus α, sehr reichlich solche des verflüssigenden Typus γ und die des modrig riechenden Stäbchens β gewinnen. Ueberdies tritt der auch in der Serie Rh. a gefundene Mikroorganismus, dessen Kolonieen reichlich Kugeln von $CaCO_3$ enthalten, in einigermaßen erheblicher Zahl auf. Die Platten, welche mit den Blattresten selbst angelegt waren, unterschieden sich von denen aus der Flüssigkeit auffallend durch die ansehnliche Zahl von Kolonieen des Typus α. Sonst stimmten beide überein. Neue, früher nicht gefundene Formen in jedenfalls nur unbedeutender Zahl waren 2 vorhanden, die nicht genauer berücksichtigt wurden.

Rh. 4.

Aus den, eine Woche der Verwesung überlassenen Blättern des Versuchscylinders Rh. 3 wurde ein neuer, enthaltend 100 g sterilisierte Rheum-Blätter geimpft. Die kulturelle Untersuchung

des Impfmateriales lieferte reichlich Hefen und Bacillus α, wenige Schimmelpilze. Doch deutet der „tabakartige" Geruch, den die Flüssigkeit bereits hatte, auf die Anwesenheit des verflüssigenden Typus γ im Ausgangsmateriale hin.

Am nächsten Tage war die dem Cylinder entnommene Flüssigkeitsprobe gelbrot, kaum trübe, ohne besonderen Geruch, außer dem nach gekochten Rheum-Blättern, sauer. Sie lieferte pro Oese 5000 Hefen und 6000 Kolonieen des Bacillus α.

Am 3. Tage: 12000 Hefen, 8000 Bacillus α.

Am 5. Tage war bereits ein gewisses Zusammensinken der Blätter im Cylinder zu bemerken. Der Geruch war etwas säuerlich geworden, die angesammelte Flüssigkeit dicht trübe, sauer. Die kulturelle Untersuchung ergab 37000 Hefen, 20000 Kolonieen von Bacillus α, wenige Schimmelmycelien.

Am 7. Tage: 30000 Hefen, ebensoviel Bacillus α, kein Schimmel.

Am 9. Tage ist die Rarefaktion der Blattmasse, die sich dunkler verfärbt hat und auf welcher nirgends Schimmelwachstum sichtbar ist, sehr deutlich geworden: die Blätter sind fast ganz am Grunde des Cylinders zu einer dunklen Masse zusammengesunken, in welcher Details kaum mehr erkennbar sind. Die an Menge beträchtlich vermehrte Flüssigkeit ist grautrübe, sauer. Mikroskopisch finden sich darin nur Hefen, plumpe, kurze bis mittellange öfters zu Ketten vereinigte Stäbchen, sowie in geringerer Zahl längere Fäden. Kulturell ist das ziemlich reichliche Auftreten verflüssigender Bakterien vom Typus γ bemerkenswert. Es finden sich 30000 Hefen, ungefähr ebensoviel Bacillus α, 1200 Bacillus γ, etwa 200 Pilzmycelien.

Nach 11 Tagen ist der Geruch der sicher schwächer sauer gewordenen, weißtrüben Flüssigkeit deutlich „tabakartig" geworden. Kulturell ergeben sich: 20000 Hefen, 30000 Bacillus α, 2000 verflüssigende Bacillus γ, höchstens 50 Mycelien.

Nach 15 Tagen ist im Cylinder der „tabakartige" Geruch rein und scharf geworden. Die mäßig saure Flüssigkeit ist wieder beträchtlich vermehrt. 40000 Hefen, ebensoviel Bacillus α, 2000 Bacillus γ, 200 Mycelien.

Nach 17 Tagen: 30000 Hefen, 29000 Bacillus α, 870 Bacillus γ, 400 Pilzmycelien.

Nach 20 Tagen ist die Flüssigkeit dicklich, trübe geworden; die Reaktion ist bei sehr scharfem Geruche nur noch schwach sauer. Charakteristisch ist das rapide Ansteigen der verflüssigenden Bacillen γ, welche nunmehr den Typus α stark zurückdrängen, während sich die Hefe noch halten kann. Eine halbwegs verläßliche Zählung ist aber nicht mehr möglich.

Nach 23 Tagen bilden die Blattreste nur noch eine schwärzliche, am Boden des Cylinders liegende, formlose, bei der geringsten Berührung zergehende Masse, von kaum noch saurer Reaktion. Der Geruch ist noch tabakartig, hat aber bereits einen deutlich modrigen Nebengeruch. Die Mehrzahl aller Kolonieen wird von dem verflüssigenden Bacillus γ gebildet, Hefe hält sich, Ba-

cillus α geht noch weiter zurück. Pilzmycelien sind ohne Mühe zu finden. Neu tritt der, den modrigen Geruch verleihende Bacillus β in geringer Zahl auf.

Nach 26 und 29 Tagen ist die dicktrübe, „tabakartig" und dabei modrig riechende Flüssigkeit, welche beim Stehen an der Luft nachdunkelt, neutral bis schwach alkalisch geworden. Die verflüssigenden Bakterien herrschen weitaus vor, haben den Typus α fast ganz zum Verschwinden gebracht und die Hefe sehr zurückgedrängt. Der modrig riechende Bacillus in mäßiger, Pilze in andauernd geringer Zahl.

Nach 32 Tagen ist der modrige Geruch und die alkalische Reaktion stärker geworden. Kulturell im wesentlichen wie vorher.

Nach 35 Tagen, zur Zeit des Abbruches des Versuches, ist nur noch eine matsche, mit Ausnahme einiger grober Blattnerven, ganz unkenntlich gewordene Masse vorhanden, die dort, wo sie frei lag, fast schwarz, dort, wo sie in Flüssigkeit eintauchte, tief dunkelgrün ist. Von Flüssigkeit lassen sich trotz der oftmaligen Entnahme noch 15 ccm abgießen; sie wird beim Stehen an der Luft nach kurzer Zeit fast ganz schwarz, ist trüb und reagiert alkalisch. Der Geruch ist tabakartig und dabei modrig.

Die sowohl aus der Flüssigkeit wie mit der Blattmasse angefertigten Platten ergeben die bisherigen Formen unter bedeutendem Ueberwiegen verflüssigender Bakterien. Auch hier tritt die bei Rh. 3 bemerkte Eigentümlichkeit auf, daß der Bacillus α in der Flüssigkeit fast ganz fehlt, während er in der Blattmasse noch recht reichlich vorkommt. Hefe ist noch in ziemlicher Zahl vorhanden, Schimmelpilze sind relativ sehr spärlich. Der den Modergeruch herbeiführende Organismus findet sich in ziemlicher Zahl.

Rh. 6.

Aus den eine Woche lang der Verwesung im Cylinder Rh. 4 überlassenen Rheum-Blättern wurde ein neuer Cylinder mit 100 g sterilisierter Blätter geimpft. Das Impfmaterial lieferte bei der Plattenuntersuchung nur Hefe, Bacillus α und einige Schimmelpilze.

Am nächsten Tage ist die am Grunde des Cylinders befindliche gelbrote Flüssigkeit kaum getrübt, ohne eigenartigen Geruch, sauer. Mikroskopisch finden sich nur Hefen und die plumpen, oft in Ketten vereinten Stäbchen des Bacillus α, beides nur in geringer Zahl. Kulturell 9000 Hefen, etwas weniger Kolonieen von α.

Nach 3 Tagen ist die Flüssigkeit am Grunde des Cylinders dicht trübe geworden und ist sicher vermehrt. Schon jetzt scheinen die Blätter zusammenzusinken. Mikroskopisch Hefen und in sehr großer Menge Bacillus α.

Kulturell 12000 Hefen, 70000 Bacillus α, etwa 50 Mycelien des bisher immer gefundenen Pilzes.

Nach 5 Tagen: 17700 Hefe, 20000 Kolonieen von α, 100 Mycelien.

Nach 8 Tagen: 10000 Hefen, ungefähr ebensoviel Kolonieen von α, wenige Mycelien.

Nach 11 Tagen ist die Rarefaktion der Blätter bereits sehr deutlich geworden; sie sinken zum größten Teil bereits zusammen. Die Flüssigkeit ist beträchtlich vermehrt, dicht trübe, sauer; ihr Geruch ist deutlich „tabakartig".

Kulturell treten neben 20000 Hefen, 12000 Bacillus α, etwa 200 Pilzmycelien noch 250 verflüssigende Kolonieen des Typus γ auf.

Nach 14, 17, 20 Tagen im wesentlichen das gleiche Bild. Die Reaktion der Flüssigkeit ist nur noch schwach sauer; vereinzelte Kolonieen des modrig riechenden Bacillus treten auf.

Nach 23 Tagen gewinnen die verflüssigenden Bakterien stark an Zahl, wobei der Geruch der immer schwächer sauer werdenden Flüssigkeit immer stärker „tabakartig" wird. Hefe hält sich, während Bacillus α stark abgenommen hat.

Nach 27 Tagen sind die Blätter ganz zusammengesunken, zerfallen und unkenntlich geworden, dunkel. Ihr Geruch ist „tabakartig" und daher leicht modrig. Die Reaktion der dicht trüben Flüssigkeit ist noch schwach sauer. Kulturell finden sich noch reichliche Hefen und verflüssigende Bakterien. Der modrig riechende Bacillus nimmt bedeutend an Zahl zu, während Bacillus α bereits recht spärlich zu werden anfängt.

Der Versuch war in diesem Stadium 14 Tage lang unterbrochen worden, während welcher Zeit die Probe bei geöffnetem Kautschukverschlusse in der Kälte stand und jedenfalls einen großen Teil der Zeit über fest gefroren war. Nach Wiederaufnahme des Versuches hatte sich gegen die letzte Untersuchung nichts wesentliches geändert. Die kulturelle Prüfung wurde noch 14 Tage lang fortgesetzt, wobei die Reaktion erst neutral, dann alkalisch wurde, der Geruch sich dem rein modrigen näherte. Die verflüssigenden Bakterien wurden herrschend.

Zur Zeit der Beendigung des Versuches ergab sich fast genau das bereits bei Rh. 4 beschriebene Bild.

Ganz ähnlich waren die Befunde bei der anderen Versuchsreihe, zu welcher das Material ebenfalls der Probe Rh. I entnommen war, aber erst zu einer Zeit, wo die CO_2-Entwickelung bereits vollständig aufgehört hatte.

Rh. Ib.

Die zum Impfen verwendete Flüssigkeit ist dicht trübe, riecht stark moderig und hat stark alkalische Reaktion. Mikroskopisch sind weder Hefen noch Pilzfragmente zu sehen; Bakterien aber in nicht zu entwirrender Menge. Die angelegten Plattenkulturen geben wegen rapid eintretender Verflüssigung kein Resultat. Geimpft werden 50 g Rheum-Blätter.

Nach 24 Stunden (CO_2-Produktion erst 0,9 ccm!) enthält die gelbrote, klare, stark saure Flüssigkeit nur 41 Hefen und 3 Kolonieen eines verflüssigenden Bacillus vom Typus γ der oben erwähnten Versuchsserien.

Nach 3 Tagen ist auf den Blättern ein geringfügiges Mycelwachstum an einer Stelle zu sehen. Die saure Flüssigkeit ist stark getrübt. Die angelegten Plattenkulturen gingen zufällig verloren.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Der Nachweis der Geisseln bei allen Coccaceen.

Von **David Ellis**, B.Sc. (London), aus Aberystrwyth, Wales.

[Arbeit aus dem botanischen Institut zu Marburg i. H.]

Mit 2 Tafeln.

Als ich die Species Spirillum giganteum im Laboratorium des Botanischen Instituts zu Marburg untersuchte, fand ich, daß fortwährende Uebertragungen der Spirillen auf neues Nährsubstrat eine Beschleunigung der Beweglichkeit erzeugten.

Nach dem Vorschlag von Herrn Prof. Arthur Meyer prüfte ich auf Grundlage dieser Erfahrung angeblich unbewegliche Formen der Bakterien auf ihre Schwärmfähigkeit. Zuerst untersuchte ich eine Reihe von zugänglichen Sarcinen. Die Species wurden möglichst identifiziert und durch die Freundlichkeit des Herrn Král, von dem sie das Institut bezog, kann ich auch ihre Herkunft angeben. Die betreffenden Kulturen wurden auf Dextroseagar und Spirillenagar geimpft, um zu sehen, auf welchem Nährsubstrat sich das Wachstum am stärksten zeigte. Sobald ein sichtbares Wachstum stattgefunden hatte, wurde von der Kolonie eine Spur auf neuen Agar geimpft. Dieses Verfahren wurde solange wiederholt, bis man die Bewegung der Individuen wahrnehmen konnte, und dann wurde weiter abgeimpft und kultiviert, bis die Kultur für Geißelpräparate geeignet war. Die Geißelpräparate waren schwierig anzufertigen, und für jede Species mußte die Methode genau ausprobiert werden. Ich habe immer zuerst die Methode, die für die Bacillenarten von Prof. Arthur Meyer angegeben worden ist (1899, p. 428), probiert, und wenn diese sich nicht passend zeigte, habe ich die Temperatur der Fixierung, die Zeit der Einwirkung der Beize, die Zeit und die Temperatur der Einwirkung des Säurevioletts so oft verändert, bis es mir gelang, die Geißeln nachzuweisen. Die Methode, die im hiesigen Laboratorium gewöhnlich benutzt wird, ist die folgende:

Temperatur der Fixierung 40° C, 5 Minuten lang;
Beize 4—6 Minuten bei Zimmertemperatur;
Farbstoff: Säureviolett; Erhitzung bis zur Dampfentwickelung, dann 2 Minuten lang bei Zimmertemperatur stehen lassen.

Ich gebe für jede Species die Methode an, die es mir ermöglichte, die Geißeln nachzuweisen, aber es ist damit nicht gesagt, daß die Geißelfärbung immer mit der betreffenden Methode gelingen wird, weil das Gelingen wesentlich auch von der Anzahl der Uebertragungen und dem dadurch bewirkten Verschwinden des Schleims abhängt.

Die folgenden Sarcina-Formen wurden untersucht:

Sarcina	pulmonum	Sarcina	mobilis
„	aurescens	„	fimentaria
„	flavescens	„	gasoformans
„	rosea	„	striata
„	flava	„	vermiformis

Sarcina oleus	Sarcina marginata
„ ventriculi	„ α
„ fuscescens	„ β

I. Sarcina pulmonum (Virchow 1856, p. 557.)
(Aus dem Pathologischen Institut zu Tübingen.)

Das Wachstum auf Gelatineplatten, auf Dextroseagar und in Gelatinestichkulturen stimmte mit der Beschreibung in Migula's „System der Bakterien". Bd. II. p. 227 überein.

Wenn nach der ersten Uebertragung auf Dextroseagar eine 1 Tag alte Kultur untersucht wurde, waren die Individuen ganz ohne Bewegung. Dagegen zeigten diese nach weiteren 5 Tagen eine eigentümliche, zitternde Bewegung. Dieses war keine sogenannte Molekularbewegung, denn einzelne Individuen rotierten langsam. Ein Geißelpräparat zeigte auch, daß einige Individuen je eine Geißel besaßen. Nach 2—3 Uebertragungen hatten die Individuen 1 Tag alter Kulturen diese zitternde Bewegung und nach 6 Tagen waren die Individuen derselben Kultur beinahe so beweglich, wie die von Sarcina ureae in 40 Stunden alten Kulturen. Außerdem waren die großen Packete vollständig verschwunden. Die Zellen blieben in einer Kultur mindestens 15 Tage beweglich. Nach dieser Zeit fingen sie wieder an, unbeweglich zu werden. Es gelang mir, mittels der gewöhnlichen Methode die Geißeln nachzuweisen. Fig. 12 u. 13, Taf. II, stellen zwei Exemplare dar.

II. Sarcina aurescens (Henrici 1894, p. 92) Gruber.

War, wie die übrigen Species, von Král bezogen und stammte direkt von der Kultur Gruber's, aus Migula's Laboratorium, ab.

Die Gelatineplattenkultur stimmte mit der Beschreibung von Gruber (p. 263) überein, nur konnte ich keine Spur von einem an Käse erinnernden Geruch wahrnehmen. Auch die Gelatinestichkultur entsprach Gruber's Beschreibung. Merkwürdig war, daß in meinen sämtlichen Kulturen auf Agar wie auf Gelatine der Belag perlgrau war. Gruber sagt, daß in seinen Kulturen der Belag hellorange gefärbt war.

Die Kultur, die ich von Král erhielt, bestand aus ganz unbeweglichen, großen, schleimigen, unregelmäßigen Packeten. Auf Spirillenagar wuchs die Species sehr gut. 6 Tage nach der ersten Uebertragung auf Spirillenagar zeigten die Zellen eine kaum wahrnehmbare, zitternde Bewegung und hatten schon angefangen, sich voneinander zu trennen. Eine von dieser 6 Tage alten Kultur abgeimpfte, 3 Tage alte Kultur, hatte Individuen, deren Bewegung leichter zu erkennen war, und die schon aus weniger Zellen bestanden. Eine Geißelfärbung nach der gewöhnlichen Methode zeigte schon zahlreiche, lange Geißeln, doch waren dieselben wenig klar. Die Kultur wurde nochmals übertragen und die neue Abimpfung 9 Tage im Brutschrank (28° C) stehen gelassen. Die Individuen

waren jetzt so wenigzellig, daß man im Gesichtsfeld fast nur Uni- und Diplokokken sah. Bemerkenswert ist, daß die Größe der Zellen sehr verschieden war (vergl. Fig. 1a und 1b, Taf. I). Die Bewegung war eine aktive, zitternde; manche Individuen zeigten eine langsame Rotation. Die Geißeln waren lang, zahlreich, ziemlich dick und geschlängelt (Fig. 1a u. b).

III. Sarcina flavescens (Henrici 1894, p. 91).
(Aus der technischen Hochschule zu Karlsruhe.)

Das Wachstum in meinen Agarkulturen, Gelatineplatten und Gelatinestichkulturen stimmte mit der Beschreibung Henrici's vollständig überein.

Die Originalkultur bestand aus einer sehr schleimigen Masse von unbeweglichen Packeten. Nach zwei Uebertragungen auf feste Nährsubstrate fingen die Individuen erst nach 7 Tagen an sich zu bewegen, und nach 2 Wochen, nachdem die Kokken sich voneinander getrennt hatten, waren die zitternden und rotierenden Bewegungen leichter wahrzunehmen. Da noch viel Schleim vorhanden war, ließen sich die Geißelpräparate schwierig anfertigen. Die Geißelfärbung gelang schließlich nach folgender modifizierten Methode:

Fixierung 5 Minuten bei 40° C;
Beize 8 Minuten bei Zimmertemperatur;
Säureviolett 4 Minuten, ohne Erhitzung.

Die Geißeln (Taf. I, Fig. 2) sind zahlreich, lang und geschlängelt. Die unregelmäßige Form des Bildes rührt von noch vorhandenen Schleimmassen her.

IV. Sarcina rosea (Lindner) Migula (1888, p. 45).

Diese Species erhielt Král von Herrn Prof. Dr. Flügge in Breslau.

Die Beobachtungen an den auf schrägem Agar, auf Gelatineplatten und in Nährbouillon hergestellten Kulturen stimmten mit denjenigen Lindner's überein.

Die Species wuchs gut auf Spirillenagar.

Schon 24 Stunden nach der Impfung wurde auf dem Agar ein starker Belag gefunden. Von der 4 Tage alten Kultur wurde wieder auf Spirillenagar geimpft, die Umimpfung in gleicher Weise noch zweimal vorgenommen und dann von der letzten, 2 Tage alten Kultur nochmals auf Spirillenagar geimpft. Nach einem Tage waren die Individuen der Kultur teils in großen Packeten zu finden, teils waren die Kokken so vollständig getrennt, daß Uni-, Diplo- und Trikokken häufig vorkamen. Die freien Kokken waren sehr verschieden groß (Taf. I, Fig. 3a u. b). Alle Individuen zeigten zitternde Bewegung und manche auch die charakteristische Rotation. Die Species wurde nochmals zweimal umgeimpft und 8 Tage im Brutschranke stehen gelassen. Jetzt fand ich, daß fast alle Kokken getrennt waren und daß alle Zellen die Größe der Fig. 3a hatten, so daß in diesem Falle das Verschwinden des Schleims und

die Trennung der Kokken mit einer Zunahme ihrer Größe Hand in Hand ging. Fig. 3a und 3b, Taf. I, stellen zwei begeißelte Gruppen dar. Das Geißelpräparat war nach der gewöhnlichen Methode gelungen. Jede Zelle hatte lange, zahlreiche und geschlängelte Geißeln.

V. Sarcina flava (de Bary 1887, p. 151).
(Aus der technischen Hochschule zu Karlsruhe.)

Die Species ist von Gruber genauer beschrieben, das Wachstum stimmte mit seinen Angaben überein, nur daß auf meinen Platten keine Verflüssigung eintrat.

In Gelatinestichkulturen war das Wachstum ferner folgendes: Nach 3 Tagen zeigte sich auf der Oberfläche ein gelber, 3 mm breiter Belag, während längs des Stichkanals im oberen Teil ein ziemlich schwacher, feinkörniger Streifen entstand, der sich bald in der Tiefe verlor. Nach 20 Tagen sah die Oberfläche etwas schaumig aus, war aber nicht verflüssigt.

Es war etwas schwierig, die Individuen dieser Species in Bewegung zu setzen. Die Species wächst ausgezeichnet auf Spirillenagar. Schon 24 Stunden nach der Impfung fand starkes Wachstum statt. Mittels fortwährender Uebertragungen auf feste Nährsubstrate war es mir unmöglich, die Kokken der großen, schleimigen Massen voneinander zu trennen, obgleich die Umimpfung 8mal wiederholt wurde. Endlich gelang mir die Trennung nach 2 Uebertragungen in Nährbouillon. Dann wurde eine Spur von der Bouillonkultur auf Spirillenagar übertragen, und 2 Tage später hatten die Individuen die charakteristische Bewegung erlangt. Durch die Uebertragung waren die Zellen bedeutend kleiner geworden. Die Geißeln waren sehr schwierig zu färben. Nach folgendem Verfahren gelang die Geißelfärbung manchmal:

Fixierung 5 Minuten bei 35° C,
Beize 8 Minuten bei Zimmertemperatur,
Säureviolett erhitzen bis zur Dampfentwickelung, dann weitere 5 Minuten bei Zimmertemperatur stehen lassen.

Die Zellen waren tief, die Geißeln kaum gefärbt (Fig. 4, Taf. I). Obgleich die beobachteten begeißelten Individuen, deren Anzahl eine geringe war, nur je eine Geißel besaßen, scheint es mir doch höchst wahrscheinlich, daß auch die Individuen dieser Species peritriche Geißeln besitzen und daß die meisten Geißeln während der Anfertigung des Geißelpräparats abgeworfen worden waren.

VI. Sarcina oleus (Henrici 1894, p. 94).
(Aus der technischen Hochschule zu Karlsruhe.)

Das Wachstum auf Agar, auf den Gelatineplatten und in der Gelatinestichkultur entsprach der Beschreibung Henrici's, nur war keine Spur eines an Käse erinnernden Geruchs wahrzunehmen und zeigte sich in der Stichkultur das anaërobe Wachstum bedeutend stärker, als Henrici es angiebt.

Der Belag auf Spirillenagar, auf dem die Species am besten

wuchs, war so schleimig, daß eine vollständige Trennung der Kokken nur schwierig zu bewirken war. Nach 5 Uebertragungen waren die schleimigen Massen wenigkokkiger[1]) geworden und die kleinsten unter ihnen hatten eine kaum wahrnehmbar zitternde Bewegung. Eine Geißelfärbung gelang nicht. Infolgedessen wurden die Uebertragungen fortgesetzt, und von jetzt an fehlte nie die zitternde Bewegung der wenigkokkigen Individuen. Endlich nach 4 weiteren Uebertragungen bestand die 1 Tag alte Spirillenagarkultur nur aus Uni- und Diplokokken, die eine aktive zitternde Bewegung hatten. Es war aber doch noch viel Schleim vorhanden.

Methode der Geißelfärbung:

Fixierung 5 Minuten bei 40° C,
Beize 8 Minuten bei Zimmertemperatur,
Säureviolett 4 Minuten bei Zimmertemperatur.

Die sämtlichen Kokken waren noch mit Schleim umgeben (Fig. 5, Taf. I).

Es wurde immerhin soviel klar, daß die Geißeln lang, zahlreich und geschlängelt sind.

VII. Sarcina ventriculi (Goodsir 1842).
(Aus der technischen Hochschule zu Karlsruhe.)

In der Beschreibung von Migula (9, p. 259) ist nur wenig über diese Spezies mitgeteilt. Auf meinen Kulturen wuchs sie in Form eines gelblichen oder gelblichweißen Belages. Ich gebe zunächst eine etwas ausführlichere Beschreibung des Wuchses.

Gelatinestichkultur: Nach 4 Tagen fand sich auf der Oberfläche ein 4 mm breiter, perlgrauer Belag. Längs des Stichkanals bis ungefähr zur Hälfte des Stichs sah man einen grauen Streifen, der aus einer Anzahl von Pünktchen bestand. Die untere Hälfte blieb ganz steril. Nach 9 Tagen war die Kultur bis zum Glasrand gewachsen, und nach 10 Tagen fing die Gelatine an sich zu verflüssigen. Nach 5 Wochen war die ganze Gelatine verflüssigt. Die verflüssigte Gelatine war klar und am Boden befand sich eine gelblichweiße Schicht.

Das beste Nährsubstrat war Spirillenagar. Nach 3 Uebertragungen waren die Kokken in einer 1 Tag alten Kultur etwas getrennt, infolgedessen zeigte sich die gewöhnliche, zitternde Bewegung und die langsame Rotation. Ein Geißelpräparat gelang nicht. Die Kultur wurde noch 2mal übertragen und untersucht, als sie 5 Tage alt war. Die zitternde Bewegung war jetzt leichter wahrzunehmen, weil die Individuen wenigkokkiger geworden waren und sich weniger Schleim in der Kultur zeigte. Die Geißelfärbung wurde nach der gewöhnlichen Methode ausgeführt. Wie man in Fig. 6a Taf. I sehen kann, war noch viel Schleim vorhanden, so daß die Geißeln weniger ausgeprägt waren. Man sah aber, daß die Geißeln dieser Species wie diejenigen der anderen Sarcinen zahlreich, lang und geschlängelt sind (Fig. 6a u. b, Taf. I).

---

1) Nach Analogie mit wenigstäbig, s. Arthur Meyer, 1897.

VIII. Sarcina fuscescens (de Bary 1887, p. 181).
(Aus der technischen Hochschule zu Karlsruhe.)

Diese Species wurde von Falkenheim gezüchtet und von de Bary Sarc. fuscescens getauft. Migula (9, p. 259) behauptet, daß sie mit Sarc. ventriculi identisch sei. Ich habe die beiden Species miteinander verglichen. Auf allen festen Nährsubstraten bildete Sarc. ventriculi einen weißen oder gelblichweißen, dicken Belag, während Sarc. fuscescens auf Spirillenagar zuerst einen durchsichtigen, farblosen Belag, der später eine bräunlichrote Farbe annahm, bildete. Auf Dextroseagar wurde stets ein farbloser Belag gebildet. Die Gelatineplattenkulturen kann man nicht voneinander unterscheiden. Die Gelatinestichkulturen der beiden Species waren vollständig gleich, und die Beschreibung, die ich für Sarc. ventriculi gegeben habe, gilt auch für Sarc. fuscescens. Die charakteristische Bewegung der Individuen wurde schon in der Originalkultur bemerkt. Diese bestand fast ausschließlich aus Uni-, Diplo- und Trikokken, sehr ausnahmsweise konnten mehrkokkige Individuen beobachtet werden. Nach 2 Uebertragungen war die Bewegung noch deutlicher erkennbar. Es wurden Geißelpräparate angefertigt.

Methode der Geißelfärbung:
- Fixierung 5 Minuten bei 40° C,
- Beize 6 Minuten bei Zimmertemperatur,
- Säureviolett erhitzen bis zur Dampfentwickelung, dann 2 Minuten bei Zimmertemperatur stehen lassen.

Es war noch ziemlich viel Schleim vorhanden (Fig. 7, Taf. I). Die Geißeln der Individuen waren meist zahlreich.

IX. Sarcina mobilis (Maurea 1892, p. 228).
(Aus der technischen Hochschule zu Karlsruhe.)

Meine Beobachtungen über das Wachstum auf Agar auf den Gelatineplatten und in den Gelatinestichkulturen entsprachen der Beschreibung Maurea's, nur war die Farbe aller Kulturen nicht ziegelrot, wie von Maurea angegeben ist, sondern citronengelb. Auch in meinen sämtlichen Kulturen auf Dextroseagar und auf Spirillenagar wurde die Kultur anfangs grauweiß, dann später citronengelb. Migula, der diese Species direkt von Maurea bekam, fand, daß seine sämtlichen Kulturen orangegelb gefärbt waren.

Die Geißeln dieser Species sind schon von Maurea beschrieben. Er sagt (6, p. 230): „Wenn man hingegen die einfache Beize gebraucht, so findet man sehr klare und zahlreiche Geißeln. Die Form derselben scheint mir recht charakteristisch. Nur wenige sind den gewöhnlichen Geißeln ähnlich, das heißt langgestreckt und leicht wellig; meistens sind sie in sich zurückgebogen, in der Weise, daß die Geißel an beiden Enden mit dem Körper des Bakteriums zusammenzuhängen scheint.“ Als ich diese Species von Král bekam, fand ich, daß die Individuen vollständig unbeweglich waren, und daß sie große unregelmäßige Packete bildeten. Die Species war unter allen Sarcinen, die ich untersucht habe, am

schwierigsten beweglich zu machen. Auf Spirillenagar wächst die Species ausgezeichnet und alle Kulturen wurden, wenn sie einen Tag alt waren oder früher, auf die Bewegung hin untersucht, weil Maurea angiebt, daß die Bewegung nach einem Tage aufhört. Nach 10 Abimpfungen auf Agar waren die Kokken noch unbeweglich, und Impfungen in Nährbouillon gaben dieselben Resultate. Endlich bekam ich die erforderliche Bewegung, indem ich 2mal in Nährbouillon überimpfte und dann 3mal auf Dextroseagar abimpfte. Die Individuen einer solchen 3 Tage alten Kultur zeigten eine aktive zitternde Bewegung.

Methode der Geißelfärbung:
Fixierung 5 Min. bei 40° C,
Beize 8 Min. bei Zimmertemperatur,
Säureviolett 10 Min. ohne Erhitzung.

In Fig. 8a, Taf. I sieht man Geißeln von maximaler Länge. In Fig. 8b, Taf. I sind die Geißeln entweder abgebrochen oder noch nicht vollständig ausgewachsen. Sie sind bedeutend länger als die von Migula in seinem System der Bakterien. Bd. I. Taf. I. Fig. 2, dargestellten. Sie sind wie die Geißeln anderer Sarcinen, lang, zahlreich und geschlängelt. Bemerkenswert ist auch, daß nicht nur die Kokken der 1 Tag alten, wie Maurea es angiebt, sondern auch diejenigen von 3 und mehreren Tagen alten Kulturen beweglich sind.

X. Sarcina fimentaria (Planosarcina Samesii) Sames 1898, p. 664.

(Diese bezog Král von dem Entdecker Sames.)

Ich habe mir diese Species schicken lassen, weil Sames die Bildung ausgeprägter Geißelzöpfe berichtet. Meine Beobachtungen an den Gelatineplattenkulturen, Stichkulturen und Agarkulturen stimmen mit denjenigen Sames' vollständig überein.

Die Individuen dieser Species waren kaum wahrnehmbar beweglich, als ich sie bekam. Nach 1—2 Uebertragungen wurde die Bewegung deutlicher erkennbar und nahm mit dem Alter zu. Die Individuen aller Kulturen zeigten die charakteristische zitternde und rotierende Bewegung.

Methode der Geißelfärbung:
Fixierung 5 Min. bei 30° C,
Beize 5 Min. bei Zimmertemperatur,
Säureviolett 5 Min. bei Zimmertemperatur.

Wie Sames angiebt, sind die Geißeln sehr lang, geschlängelt und sehr zahlreich, so zahlreich, daß der Verlauf einer einzelnen Geißel gewöhnlich nicht zu verfolgen ist. In Fig. 9, Taf. I, ist eine Zelle dargestellt, bei welcher die meisten Geißeln abgeworfen waren. Geißelzöpfe habe ich in meinen Präparaten nicht gesehen.

XI. Sarcina gasoformans (Gruber 1895, p. 270).
(Aus der technischen Hochschule zu Karlsruhe.)

Die Individuen der Originalkultur bestanden aus Paketen, die meistens aus regulären Würfeln zusammengesetzt und ganz unbeweglich waren. Schon nach der ersten Uebertragung auf Dextroseagar wurden oft Diplokokken beobachtet, letztere waren beweglich.

Methode der Geißelfärbung:
Fixierung 5 Min. bei 40° C,
Beize 8 Min. bei Zimmertemperatur,
Säureviolett 10 Min. bei Zimmertemp. ohne Erhitzung.

Die Geißeln sind lang und geschlängelt (Fig. 10, Taf. I). Ich habe 6—7 an einem Diplo- oder Tricoccus beobachtet.

XII. Sarcina striata (Gruber 1895, p. 271).
(Král hatte diese Sarcinenspecies aus der technischen Hochschule zu Karlsruhe erhalten.)

Die Originalkultur bestand aus bewegungslosen unregelmäßigen Paketen. Sie wuchs auf Spirillenagar ausgezeichnet, und schon nach der ersten Uebertragung wurden die Individuen beweglich. Die Kultur wurde zweimal auf Dextroseagar abgeimpft und dann wurde ein Geißelpräparat angefertigt.

Methode der Geißelfärbung:
Fixierung 5 Min. bei 40° C,
Beize 5 Min. bei Zimmertemperatur,
Säureviolett erhitzen bis zur Dampfentwickelung, dann noch 4 Min. bei Zimmertemperatur stehen lassen.

Es war, wie Fig. 11, Taf. I zeigt, noch viel Schleim vorhanden. Die Geißeln waren lang und geschlängelt, aber ob die Begeißelung monotrich oder peritrich ist, war nicht zu entscheiden.

XIII. Sarcina vermiformis (Gruber 1895, p. 266).
Král erhielt die Species aus der technischen Hochschule zu Karlsruhe.)

Als ich die Kultur bekam, waren die Kokken schon etwas voneinander getrennt, aber nicht beweglich. Die Species wuchs sehr gut auf Spirillenagar, und nach 3 Uebertragungen fingen die Kokken an, die zitternden und rotierenden Bewegungen zu zeigen, obgleich die Bildung von Packeten noch vorherrschte. Die Geißelpräparate waren schwierig anzufertigen.

Methode der Geißelfärbung:
Fixierung 5 Min. bei Zimmertemperatur,
Beize 6—7 Min. bei Zimmertemperatur,
Säureviolett 7 Min. bei Zimmertemperatur.

Fig. 12, Taf. I zeigt einen begeißelten Diplococcus mit einer geschlängelten Geißel. Die Begeißelung war peritrich.

XIV. Sarcina marginata (Gruber 1895, p. 268).
(Wurde von Král aus der technischen Hochschule zu Karlsruhe bezogen.)

In der Originalkultur waren die Individuen schon wenigkokkig und zeigten bereits die charakteristische Bewegung. Nach 2—3 Uebertragungen auf Dextroseagar gelang die Geißelfärbung nach der gewöhnlichen Methode. In Fig. 13, Taf. I ist ein begeißeltes Individuum dargestellt. Ich habe auch mehrere Geißeln an einem mehrkokkigen Individuum beobachtet.

Außerdem habe ich mittels desselben Verfahrens die Geißeln von 2 Sarcina-Species, die ich gezüchtet hatte, nachgewiesen. Die Kokken der einen Species (α), die ich aus Kuhmist und aus Schlamm erhielt, waren stets größer als die größten von allen anderen Species. Nach 3—4 Uebertragungen auf Dextroseagar war die Bewegung eben so wie bei den anderen Species deutlich zu erkennen. Fig. 14, Taf. I zeigt die Geißeln dieser Species.

Die andere Sarcina (β) wurde in Kuhmist gefunden. Auf den Gelatineplatten wurden von dieser Species runde gelblichweiße Kolonieen gebildet, deren Peripherie glatt war. In der Mitte waren sie oft erhöht und sahen infolgedessen dort etwas dunkler aus. Eine 36 Tage alte Kolonie hatte ungefähr 15 mm im Durchmesser und einen ausgebuchteten Rand. Diese Kolonie war citronengelb in der Mitte und weiß nach dem Rande zu. Die Gelatine wurde nicht verflüssigt. Gelatinestichkultur: Nach 8 Tagen hatte sich auf der Oberfläche ein hellgrauer Belag gebildet. Längs des Stichkanals fand schwache Entwickelung bis zu $^2/_3$ des Stiches statt. Nach 14 Tagen war der Belag auf der Oberfläche 2 mm breit und weißlichgelb, der Rand war glatt. Nach 5 Wochen war der Belag nur sehr wenig weiter gewachsen. Die Gelatine wurde nicht verflüssigt. Auf Dextrose und Spirillenagar bildete die Species einen grauweißen Belag. Diese Beschreibung stimmt mit der Beschreibung der Sarcina alba (Zimmermann) bei Migula ungefähr überein, nur wurde in meinen sämtlichen Kulturen die Gelatine nicht verflüssigt. Die beschriebene Species besaß zahlreiche, lange, geschlängelte Geißeln.

Allgemeine Bemerkungen.

Aus diesen Versuchen geht also wohl hervor, daß alle kugeligen Bakterien, die sich in 3 Richtungen des Raumes teilen, Bewegungsorgane in Form langer geschlängelter Geißeln besitzen. Von den 16 untersuchten Species hatten 14 sicher peritriche Geißeln, für Sarcina flava und Sarcina striata allein blieb es wegen der Schwierigkeit der Geißelfärbung unentschieden, wie die Geißeln angeordnet sind.

Der Grund, weshalb frühere Forscher die Bewegung dieser Formen nicht beobachtet haben, ist wahrscheinlich der, daß ihre Kulturen sehr viel Schleim enthielten, welches die Bewegung entweder vollständig oder fast völlig verhinderte. Vielleicht wurde die Bewegung der Sarcinen auch für Molekularbewegung gehalten. Um

die Bewegung der Sarcinen zu beobachten und sicher als Eigenbewegung zu erkennen, darf man das Deckglas nicht zu fest auf das Objektglas drücken, so daß Ströme entstehen können, alsdann sieht man sehr oft deutlich, daß die Rotation der Sarcinen gegen den Strom stattfindet. Die Bewegung der Sarcinen wird auf passenderen Nährsubstraten wahrscheinlich stärker sein als auf Dextroseagar, Spirillenagar etc. Die Species Sarc. mobilis (Planosarcina mobilis) war gar nicht und Sarc. Samesii (Planosarc. Samesii) kaum beweglich, als ich sie von Král bekam; früher jedoch, als sie von ihren Entdeckern bezw. Maurea und Sames untersucht wurden, besaßen die Individuen lebhafte Bewegung.

Ferner ist noch folgendes zu bemerken:

I. Wenn die Kokken einer Sarcina-Kultur nicht beweglich sind, so ist das Fehlen der Bewegung durch das Vorhandensein vielen Schleimes verursacht.

II. Dieser Schleim verschwindet durch fortgesetzte Umimpfungen auf passendes Nährsubstrat mehr oder weniger völlig.

III. Mit dem Verschwinden der Schleimbildung geht der Zerfall der in künstlichen Kulturen entstehenden Packete Hand in Hand, so daß zahlreiche Uni-, Diplo-, Tri- und Tetrakokken in den Kulturen auftreten.

IV. Das Verschwinden des Schleimes und der großen Pakete ist sehr oft von einer Veränderung der Größe der Kokken begleitet. Es darf deshalb die Größe der Zellen nur unter Berücksichtigung der Schwankungen der Größe bei der Diagnostik der Species herangezogen werden.

V. Da das Vorkommen von Geißeln für alle kugeligen Formen, die sich in 3 Richtungen des Raumes teilen, anzunehmen ist, so muß die Gattung Planosarcina wegfallen, und die Bezeichnung Sarcina für alle diese Species eingeführt werden.

Die Geißeln der Gattung Micrococcus.

Diese Gattung soll sich von der Gattung Sarcina durch die Art der Teilung, die anstatt in 3, nur in 2 Richtungen des Raumes stattfindet, und von der Gattung Planococcus durch das Fehlen von Bewegungsorganen, unterscheiden. Ich habe Micrococcus helvolus, Micrococcus grossus und zum Vergleich auch Planococcus citreus untersucht.

I. Micrococcus helvolus (Henrici, 1894. p. 77).

In der Originalkultur waren schon einige Kokken beweglich. Die Bewegung war dieselbe, welche ich für die Sarcinen beschrieben habe. Auf Spirillenagar wuchs die Species gut, und bereits nach einer Uebertragung war die Bewegung sehr deutlich zu erkennen.

Methode der Geißelfärbung:

Fixierung 5 Minuten bei 42° C,
Beize 9 Minuten bei Zimmertemperatur,
Säureviolett 10 Minuten ohne Erhitzung.

Die Geißeln sind, wie diejenigen der Gattung Sarcina, lang und geschlängelt (Fig. 15, Taf. I). Ich habe auch mehrere Geißeln an einem Coccus beobachtet.

II. Micrococcus citreus (Menge, 1892. p. 49). [(Micrococcus citreus agilis Menge, 1892.) (Planococcus citreus (Menge) Migula, 1900, p. 271).]

Diese Species war als eine bewegliche Form bekannt. Die Kokken der Originalkultur zeigten eine sehr aktive, walzende Bewegung, und die Geißelfärbung war leicht zu erhalten.

Am besten gelang die Färbung nach folgender Methode:

Fixierung 5 Minuten bei 40° C.
Beize 8 Minuten bei Zimmertemperatur.
Säureviolett 10 Minuten ohne Erhitzung.

Menge giebt an, daß jede Zellgruppe eine Geißel besitzt, aber wie in Fig. 17, Taf. I dargestellt ist, kann selbst jeder Coccus mehr als eine Geißel haben. Die Geißeln sind lang, geschlängelt, zahlreich und die Begeißelung ist peritrich.

III. Micrococcus grossus (Henrici, 1894. p. 71).

Die Kokken der Kultur, die ich von Král bekam, waren so deutlich beweglich, daß Uebertragungen nicht nötig waren, und die Geißelfärbung gleich von der Originalkultur angefertigt werden konnte.

Methode der Geißelfärbung:

Fixierung 5 Minuten bei 35° C,
Beize 7—8 Minuten bei Zimmertemperatur,
Säureviolett 8 Minuten ohne Erhitzung.

Die Geißeln sind bedeutend kürzer als alle die, welche ich bei den Sarcinen beobachtet habe, und bei allen Individuen war die Begeißelung immer monotrich (Fig. 16, Taf. I).

Außerdem habe ich aus Schlamm und Kuhmist 2 Formen isoliert, bei denen die Teilung nie in mehr als 2 Richtungen des Raumes stattfand.

Micrococcus α. Die lebenden Zellen messen ungefähr 1 μ. Auf Gelatineplatten wurden nach 7 Tagen hellgraue, körnige, kreisrunde, scharfrandige Kolonieen gebildet. Nach 5 Wochen sahen die Kolonieen etwas gelblich aus. Die Gelatine wurde nicht verflüssigt. Bei der Gelatinestichkultur fand sich nach 3 Tagen auf der Oberfläche ein hellgrauer, 1 mm breiter Belag, und längs des Stiches bis $^1/_3$ seiner Länge schwache Entwickelung. Nach 7 Tagen war der Belag 2 mm breit und mit starkgelappten Rändern versehen. Nach 6 Wochen war die Oberfläche mit einem schmutzigweißen, ziemlich dicken Belag besetzt, der einen stark eingebuchteten Rand besaß. Im Stichkanal fand man Streifen, die aus gelblichweißen, isolierten Kolonieen zusammengesetzt waren. Das untere Drittel des Stiches blieb ganz steril. Auf allen festen Nährsubstraten wurde ein perlgrauer Belag gebildet.

Die Form hat einige Aehnlichkeit mit Micrococcus odorus (Henrici). Die Kulturen rochen allerdings nicht, doch hatte auch keine der mir von Král übersandten Kulturen Henrici's diese Eigenschaft, obgleich dieser sie für fast alle angiebt.

Micrococcus β. Diese Species wuchs so langsam, daß nach 2 Monaten der Belag auf Dextroseagar nicht besonders vergrößert war. Die Bestimmung wurde nicht versucht.

Bei diesen 2 Species war die Bewegung wie bei den anderen Formen, und bei beiden wurden die Geißeln nachgewiesen. Die Geißeln einer Form (Micrococcus α) waren kurz, peritrich und geschlängelt, nach dem Typus von Micrococcus grossus und bei der anderen (Micrococcus β) lang, peritrich und geschlängelt, nach dem Typus von Micrococcus helvolus.

Allgemeine Bemerkungen.

Nach dem Resultate der Untersuchungen dieser 5 Formen darf man wohl schließen, daß alle Bakterien mit kugeligen Zellen, die sich in 2 Richtungen des Raumes teilen, Geißeln besitzen. Die Bewegung dieser Formen entspricht derjenigen der Sarcinen. Von den 5 Species hatten 2 bedeutend kürzere Geißeln als die übrigen Mikrokokken (inkl. Planokokken) und die sämtlichen Sarcinen.

Es ist klar, daß jetzt die Gattung Planococcus fallen gelassen werden muß.

Die Begeißelung der Streptococcusarten.

I. Streptococcus tyrogenus (Henrici 1894, p. 50).

Die Individuen dieser Species zeigten in allen Kulturen die Bewegungen, die ich für Sarcinen beschrieben habe. Das beste Nährsubstrat für diese Species war Agar ohne Dextrose. Nach mehreren Abimpfungen war die Beweglichkeit der Zellen nicht gesteigert.

Methode der Geißelfärbung:
Fixierung 5 Min. bei 40° C,
Beize 5 Min. bei Zimmertemperatur,
Säureviolett 5 Min. bei Zimmertemperatur.

Die Geißeln waren lang und geschlängelt und die Begeißelung monotrich (Fig. 1—5, Taf. II). Die Endglieder einer Kette hatten je eine Geißel. Die Geißeln fehlten nie an den Enden; in wenigen Fällen machte es den Eindruck, als ob sie auch von den Zwischengliedern ausgingen (Fig. 5, Taf. II). Es ist aber höchst wahrscheinlich, daß es sich hier um abgeworfene Geißeln handelt, die sich zufällig an diesen Stellen angelegt hatten.

Außer Streptococcus tyrogenus waren nur noch Streptococcus pallidus und Streptococcus pyogenes trotz des Entgegenkommens der Herren Prof. Lehmann, Prof. Migula, Prof. Adametz, Prof. Ludwig, Prof. Hansgirg, Dr. v. Freudenreich, Sagoro Hashimoto, die solche Species beschrieben haben, zu beschaffen.

II. Streptococcus pallidus (Henrici 1894, p. 58).

Diese Species wurde von Henrici in Neuchâteler Käse gefunden, und wächst sehr leicht in Kettenform von verschiedener Länge auf den gewöhnlichen festen Nährsubstraten.

Schon nach der ersten Abimpfung zeigten die Zellen die charakteristische zitternde Bewegung.

Methode der Geißelfärbung:

Fixierung 5 Min. bei 40° C,

Beize 5—6 Min. bei Zimmertemperatur,

Säureviolett entweder 5 Minuten bei Zimmertemperatur stehen lassen, oder über kleiner Bunsen'schen Flamme erhitzen und dann noch 2 Minuten bei Zimmertemperatur einwirken lassen.

Nach Untersuchung verschiedener Präparate kam ich zu dem Schlusse, daß eine Kette entweder nur an einem Ende oder an beiden Enden je eine Geißel hat. Die Geißeln sind geschlängelt und ziemlich kurz. In keinem Fall konnte ich wahrnehmen, daß die Zwischenglieder einer Kette Geißeln besaßen (Fig. 6—7, Taf. II).

III. Streptococcus pyogenes (Rosenbach 1884, p. 22).

Die Ketten besaßen schon in der Originalkultur eine schwache zitternde Bewegung und nach der ersten Abimpfung auf Dextroseagar und Agar ohne Dextrose war diese sehr leicht wahrzunehmen. In allen Kulturen herrschte die Kettenform vor. Man bemerkte häufig, daß eine Kette, die Richtung ihrer Längsachse plötzlich veränderte, oder sich umbog, oder auch sich aktiv eine kleine Strecke vorwärts bewegte.

Methode der Geißelfärbung:

Fixierung 5 Min. bei 40° C,

Beize 5—6$^1/_2$ Min. bei Zimmertemperatur,

Säureviolett 5 Min. bei Zimmertemperatur.

Bei ungefähr 40—50 Ketten, deren Geißeln ich beobachtete und bei Einzelkokken war entweder nur eine endständige Geißel vorhanden, oder es besaßen die beiden Enden der Kette oder des Coccus je eine Geißel (Fig. 8, 11, Taf. II). Dann habe ich einigemal 2 Geißeln (Fig. 10) und einmal 3 Geißeln an einem Ende gesehen. Die Fig. 9, Taf. II stellt einen Fall dar, in dem wahrscheinlich zahlreiche abgeworfene Geißeln an der kurzen Kette hängen geblieben waren.

Aus diesen Versuchen über die Streptokokken, geht also hervor, daß die Individuen dieser Gattung beweglich sind und Bewegungsorgane in Form von längeren oder kürzeren, geschlängelten, Geißeln besitzen. Letztere sind stets endständig und entweder an einem oder an beiden Enden vorhanden.

In den beiden letzten, wichtigsten Systemen, in denjenigen von Migula (1894) und von Fischer (1895) sind die Bakterien folgendermaßen eingeteilt:

I. Coccaceae, Kugelbakterien.
II. Bacillaceae, Stäbchenbakterien.
III. Spirillaceae, Schraubenbakterien.
IV. Chlamydobacteriaceae (resp. Trichobacteriaceae) Fadenbakterien.

Die Coccaceae werden von Migula wie folgt eingeteilt:

Familie Coccaceae. Zellen in freiem Zustande völlig kugel-

rund, Teilung nach 1, 2 oder 3 Richtungen des Raumes, indem sich jede Kugelzelle in Kugelhälften, Kugelquadranten oder Kugeloktanten teilt, die wieder zu Vollkugeln heranwachsen. Endosporenbildung selten.

1. Gattung Streptococcus. Die Zellen teilen sich nur nach einer Richtung des Raumes, wodurch, wenn sie nach der Teilung verbunden bleiben, perlschnurartige Ketten entstehen können. Bewegungsorgane fehlen.

2. Gattung Micrococcus. Die Zellen teilen sich nach 2 Richtungen des Raumes, wodurch sich beim Verbundenbleiben der Zellen nach der Teilung merismopediartige Täfelchen bilden können. Bewegungsorgane fehlen.

3. Gattung Sarcina. Die Zellen teilen sich nach 3 Richtungen des Raumes, wodurch, wenn sie nach der Teilung verbunden bleiben, warenballenartig eingeschnürte Packete entstehen können. Bewegungsorgane fehlen.

4. Gattung Planococcus. Die Zellen teilen sich nach 2 Richtungen des Raumes, wie bei Micrococcus, besitzen aber geißelförmige Bewegungsorgane.

5. Gattung Planosarcina. Die Zellen teilen sich wie bei Sarcina nach 3 Richtungen des Raumes, besitzen aber geißelförmige Bewegungsorgane.

Und von Fischer werden sie folgendermaßen eingeteilt:

1. Unterfamilie Allococcaceae. Mit beliebig wechselnder Teilungsfolge, keine scharf ausgeprägten Wuchsformen, bald kurze Ketten, bald traubige Häufchen, bald paarweise und einzeln.

Gattung Micrococcus (Cohn). Unbeweglich.

Gattung Planococcus (Migula). Beweglich.

2. Unterfamilie Homococcaceae. Mit bestimmter, für jede Gattung typischer Teilungsfolge.

Gattung Sarcina (Goodsir). Die Teilungswände folgen sich in den 3 Richtungen des Raumes, es entstehen paketartige Wuchsformen. Unbeweglich.

Gattung Planosarcina (Migula), wie die vorige, aber beweglich, monotrich begeißelt.

Gattung Pediococcus (Lindner). Teilungswände kreuzweise in den beiden Richtungen der Ebene abwechselnd.

Gattung Streptococcus (Billroth). Teilungswände immer parallel, nur in derselben Richtung. Wuchs in Ketten.

Man sieht, daß das Vorkommen oder Nichtvorkommen von Geißeln eine große Rolle bei dieser Einteilung der Coccaceen spielt. Die Gattungen Planosarcina und Planococcus besitzen Bewegungsorgane, während in den Gattungen Streptococcus, Micrococcus (Pediococcus) und Sarcina diese Organe fehlen.

Ich teile jetzt, nach den Ergebnissen meiner Untersuchung, in Uebereinstimmung mit Herrn Prof. Arthur Meyer (1902, p. 739) die Coccaceen in folgender Weise ein.

Familie Coccaceae (Ellis et A. M.).

Einzellige Individuen kugelrund; Kokken der mehrzelligen Individuen rundlich. Alle Species besitzen Geißeln.

Gattung Streptococcus (Ellis et A. M.).

Isolierte Kokken kugelrund. Teilung nur nach einer Richtung des Raumes. Vor der Teilung findet Streckung der Kokken statt. Wenn die Kokken nach der Teilung verbunden bleiben, entstehen kettenförmige Individuen. Die Letzteren tragen an einem oder an beiden Enden 1—3 endständige längere oder kürzere, in den Geißelpräparaten geschlängelte Geißeln.

Gattung Micrococcus (Ellis et A. M.).

Isolierte Kokken kugelförmig. Individuen oft 2 bis mehrzellig, dann die Kokken an den Berührungsstellen abgeplattet. Teilung nach 2 Richtungen des Raumes. Bei der Teilung findet eine zur Teilungswand senkrechte Streckung der Zelle nicht statt. Bewegungsorgane in Form von längeren oder kürzeren, in den Geißelpräparaten wellig gebogenen Geißeln. Begeißelung der Individuen monotrich oder peritrich.

Gattung Sarcina (Ellis et A. M.).

Isolierte Kokken kugelförmig. Zellen sich nach 3 Richtungen des Raumes teilend. Es findet bei der Teilung eine zur Teilungswand senkrechte Streckung der Zelle nicht statt. Die kugeligen Sporangien enthalten eine kugelige Spore. Zellen stets ohne geformte Reservestoffe und ohne nachweisbares Glykogen. Individuen mit einer oder mehreren, relativ langen, in den Geißelpräparaten wellig gebogenen Geißeln. Begeißelung peritrich.

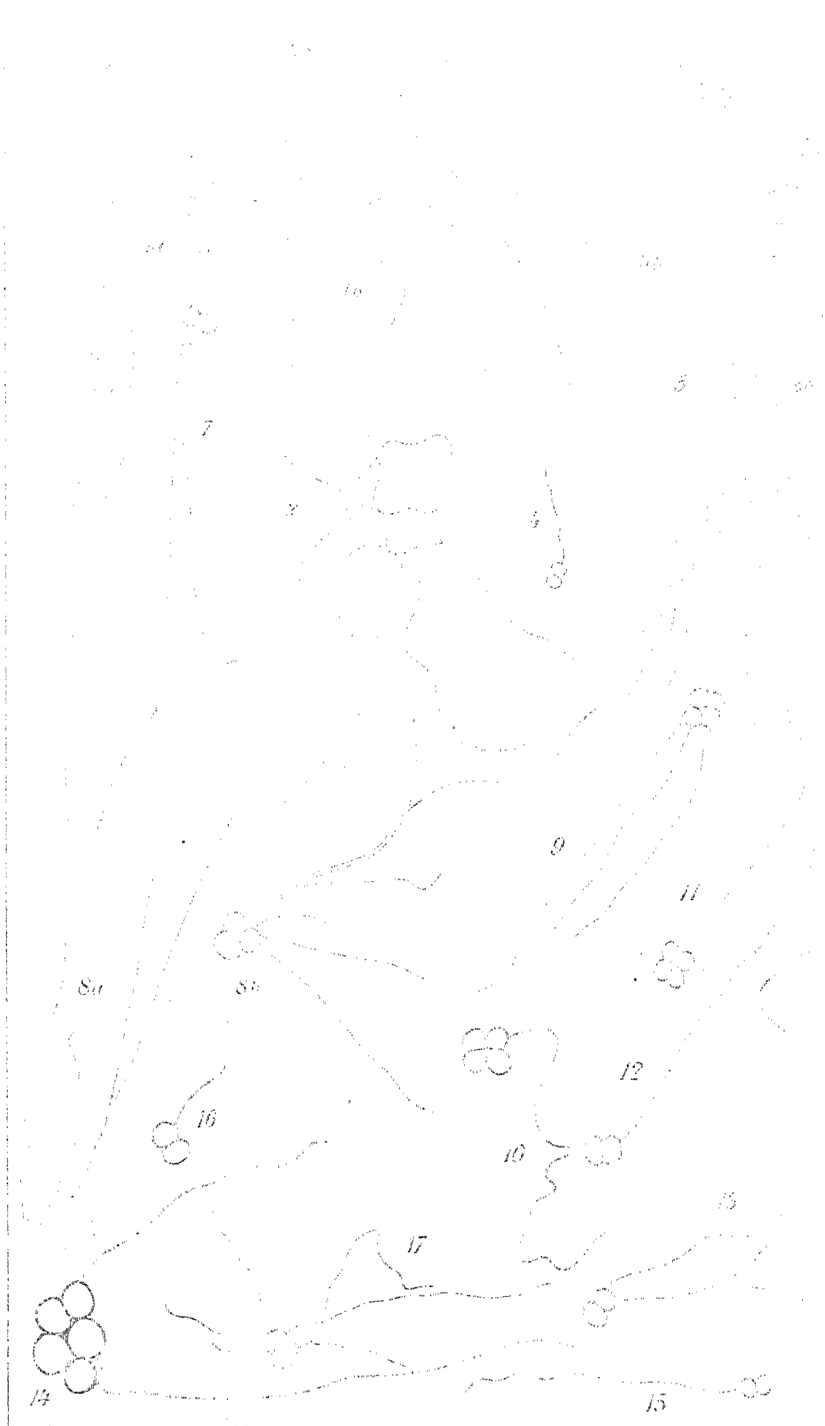
Litteratur.

1) de Bary, Vorlesungen über Bakterien. 1887. No. 3.
2) Goodsir, History of a case in which a fluid periodically ejected from the stomach, contained vegetable organisms of an undescribed form. Edinb. med. und surg. Journ. 1842. April.
3) Gruber, Die Arten der Gattung Sarcina. (Arbeiten aus dem bakt. Instit. d. Techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. Heft I. 1894.)
4) Henrici, Beitrag zur Bakterienflora des Käses. (Arbeiten aus dem bakt. Instit. d. Techn. Hochschule zu Karlsruhe. Bd. I. Heft 1. 1894.)
5) Lindner, Die Sarcinaorganismen der Gärungsgewerbe. Inaug.-Diss. Berlin 1888.
6) Maurea, Ueber eine bewegliche Sarcine. (Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XI. 1892).
7) Menge, Ueber einen Micrococcus mit Eigenbewegung. Micrococcus citreus agilis. (Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XII. 1892.)
8) Meyer, Arthur, Kurze Mitteilung über die Begeißelung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriologie. Bd. XXXI. 1902.)
9) Migula, System der Bakterien. Bd. II. 1900.
10) Rosenbach, Streptococcus pyogenes. Mikroorganismen bei den Wundinfektionskrankheiten des Menschen. 1884.
11) Sames, Eine bewegliche Sarcine. (Centralbl. für Bakteriologie. Bd. XI. 1892.)

Tafelerklärung.

Tafel I. Vergrößerung 2400.

Fig. 1a, 1b. Geißelpräparate von Sarc. aurescens.
Fig. 2. Geißelpräparat von Sarc. flavescens.
Fig. 3a, 3b. Geißelpräparate von Sarc. rosea.


7
5
4
9
11
8a
12
16
10
17
14
15

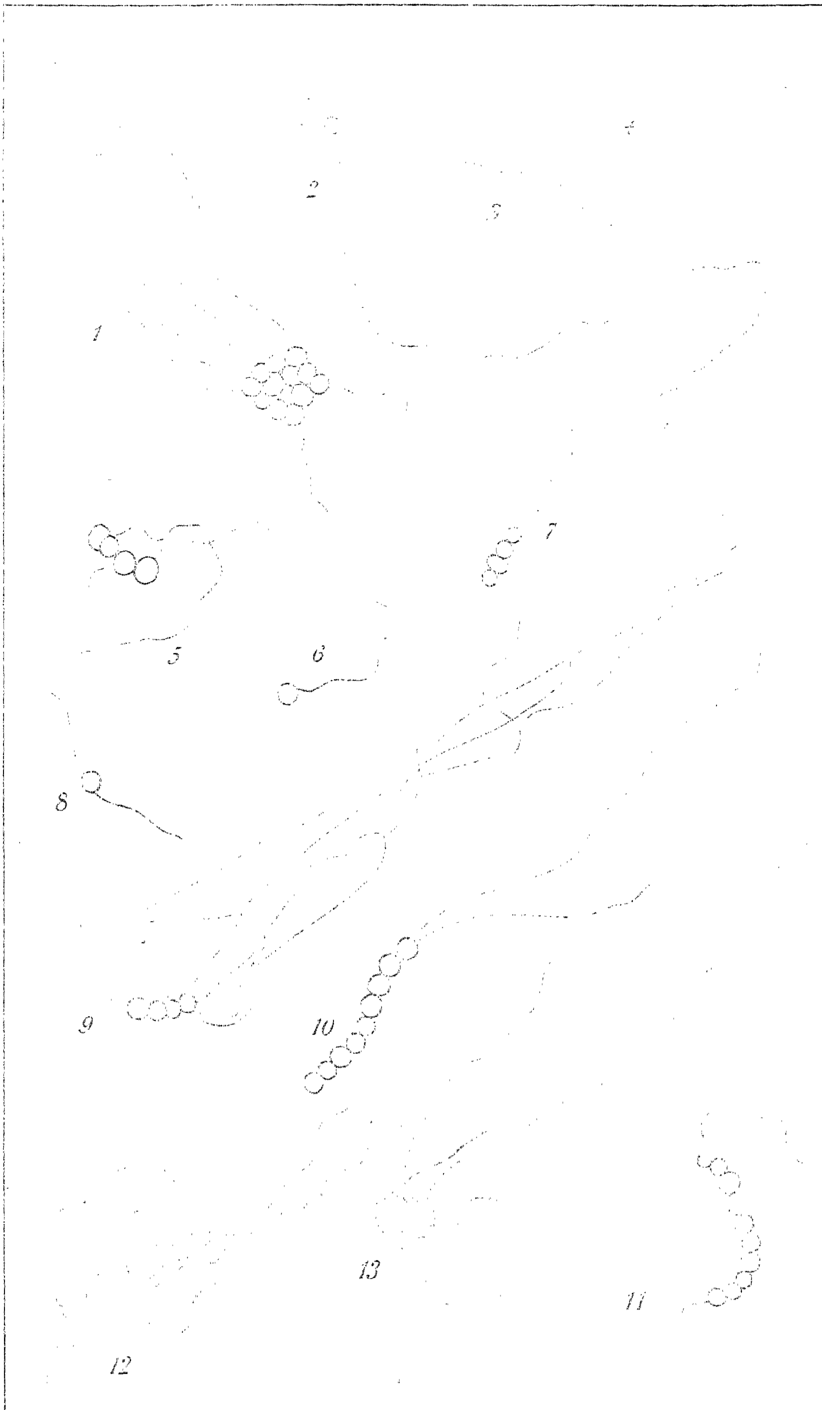

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13

Fig. 4. Geißelpräparat von Sarc. flava.
Fig. 5. Geißelpräparat von Sarc. oleus.
Fig. 6a, 6b. Geißelpräparate von Sarc. ventriculi.
Fig. 7. Geißelpräparat von Sarc. fuscescens.
Fig. 8a, 8b. Geißelpräparate von Sarc. mobilis.
Fig. 9. Geißelpräparat von Sarc. fimentaria.
Fig. 10. „ „ Sarc. gasoformans.
Fig. 11. „ „ Sarc. striata.
Fig. 12. „ „ Sarc. vermiformis.
Fig. 13. „ „ Sarc. marginata.
Fig. 14. „ „ unbekannte Sarcina (α).
Fig. 15. „ „ Micrococcus helvolus.
Fig. 16. „ „ Micrococcus grossus.
Fig. 17. „ „ Micrococcus citreus.

Tafel II. Vergrößerung 2400.

Fig. 1— 5. Geißelpräparate von Streptococcus tyrogenus.
Fig. 6— 7. „ „ „ pallidus.
Fig. 8—11. „ „ „ pyogenes.
Fig. 12—13. „ „ Sarcina pulmonum

Referate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Hoffmann, J. F., Zur Bekämpfung tierischer Schädlinge, insbesondere des schwarzen Kornkäfers. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XIX. No. 12. p. 174—175. Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Bd. XXV. No. 31. p. 339.)

Massenhaftes Auftreten des Schmalkäfers (Sylvanus frumentarius) und vor allem des schwarzen Rüsselkäfers (Calandra granaria) im lagernden Getreide veranlaßten Verf., nach einem Desinfektionsmittel zu suchen, das, ohne der Keimfähigkeit des Getreides zu schaden, diese Schädlinge vernichtet. Als besonders wirksam erwiesen sich Tetrachlorkohlenstoff, Anilin, Anilinwasser und Schwefelkohlenstoff. Für die Praxis scheidet Tetrachlorkohlenstoff seines hohen Preises wegen aus. Bei 24-stündiger Einwirkung von Schwefelkohlenstoffdampf war eine starke Schädigung des Keimvermögens des Getreides zu beobachten, eine 4—6-stündige Einwirkung war ohne Einfluß, vorausgesetzt, daß das Getreide nachträglich gut gelüftet wurde. In mit Anilindampf gesättigter Atmosphäre hatte die Keimfähigkeit des Getreides auch nach 8-tägigem Verweilen nicht gelitten, ebensowenig war, als Malz in dieser Weise behandelt wurde, eine Geruchs- oder Geschmacksschädigung zu beobachten. Verf. empfiehlt auf Grund seiner Versuche bei Auftreten der genannten Schädlinge in Getreidelagerungsräumen die Desinfektion entweder mit Schwefelkohlenstoff oder einer wässerigen Anilinemulsion vorzunehmen, bezüglich der dabei zu beobachtenden Einzelheiten sei auf das Original verwiesen.

Mohr (Berlin).

Schönfeld, F., Die Kühlapparate, ihre Form und Aufstellung in der Brauerei in Bezug auf Infektion

der Würze und schlechte Haltbarkeit der Biere. (Wochenschr. f. Brauerei. Bd. XIX. No. 34. p. 477—478.)

Gelegentlich einer Anzahl in letzter Zeit ausgeführter Betriebsrevisionen konnte Verf. nachweisen, daß sich vielfach an den Kühlapparaten starke Infektionsherde vorfanden. Meist waren es Torula, wilde Hefen, Kahm, die sich in Würzeresten an den Kühlapparaten angesiedelt hatten und so die über die Apparate gehende Würze infizierten. Verf. warnt davor, bei Konstruktion der Kühlapparate behufs Erzielung eines an sich ja erstrebenswerten hohen Kühleffektes die nicht minder wichtige Frage der praktischen Handlichkeit und der Möglichkeit einer bequemen und gründlichen Reinigung zu vernachlässigen. Ferner aber kann auch der Standort der Apparate für Bildung von Infektionsherden verantwortlich zu machen sein, insofern als er einerseits durch ungeeignete Lage das Ansetzen von Organismen begünstigen und andererseits die strenge Kontrolle über die Reinigung erschweren kann. Bezüglich des Standortes ist zu fordern, daß der Apparat in einem genügend hellen Raum steht, der vor zutretendem Hof- und Straßenstaub geschützt ist und aus dem alle anderen Apparate und Vorrichtungen, vor allem die als gefährliche Infektionsherde bekannten Trubsäcke fernzuhalten sind. Mohr (Berlin).

Referate.

Gran, H. H., Die Hydrolyse des Agars durch ein Enzym. (Bergens Museums Aarbog. 1902. No. 2.)

Bei Untersuchungen über Meeresbakterien beobachtete Gran gewisse Kolonieen auf Agar, bei denen der Nährboden nicht nur unter den Kolonieen, sondern auch mehrere Millimeter von diesen entfernt, gelöst wurde. Es mußte also von den Organismen ein lösendes Enzym ausgeschieden sein.

Als die mit Kolonien versehenen Agarplatten mit einer Jod-Jodkaliumlösung übergossen wurden, färbte sich der Nährboden dunkelviolett, nur die verflüssigten Teile des Agars zeigten die gelbe Jodfarbe und war auch hieraus zu schließen, daß durch die Bakterien eine Veränderung des Agars stattgefunden hatte. Aus verschiedenen Beobachtungen folgert Gran, daß Agar aus zwei verschiedenen Kohlehydraten besteht, von denen die eine durch die betreffenden Bakterien gelöst wird, die andere nicht, und die letztere giebt mit Jod eine Gelbfärbung. Was war nun aus dem Agar entstanden? Die Vermutung lag nahe, daß eine Zuckerart sich gebildet hatte. In sehr dünnen Agarlösungen mit Zugabe von 3 Proz. Kochsalz und 0,1 Proz. Chlorammonium vermehrten sich die Bakterien sehr stark, aber Zucker konnte durch Fehling'sche Lösung nicht nachgewiesen werden, vermutlich aus dem Grunde nicht, weil die Bakterien den Zucker sogleich weiter verarbeitet hatten. Dann wurden Agarplatten, die 3 Proz. Kochsalz und je 0,1 Proz. Bikaliumphosphat und Chlorammonium enthielten, teils mit 3 Tropfen einer flüssigen Reinkultur von Bac. gelaticus (s.

weiter unten) versetzt und teils mit einer solchen, in welcher die Bakterien zuvor getötet sind. In beiden Fällen fand nach einigen Tagen nach dem Uebergießen und schwachem Erwärmen mit Fehling'scher Lösung rotgelbe Färbung an den Stellen statt, wo die Tropfen gelegen hatten. Demnach war durch ein Enzym aus dem Agar Zucker erzeugt. Beim Zusammenbringen von Bac. phosphorescens mit gelaticus erlangten die ersteren eine höhere Leuchtkraft und geht auch hieraus hervor, daß die Fehlingsche Lösung reduzierende Substanz, höchst wahrscheinlich Zucker ist. Untersuchungen über die Natur des von dem B. gelaticus ausgeschiedenen Enzyms ergaben, daß dasselbe durch Kochen vernichtet wird, aber nicht durch Chloroform. Eine Abart, die von Gran als „energica" bezeichnet wird, übt außerdem eine Wirkung auf Stärke aus, aber jedenfalls ist das neue Enzym „Gelase" genannt, mit tierischer oder mit vegetabilischer Diastase nicht identisch. Vermutlich scheidet die Varietät „energica" neben der Gelase ein diastatisches Ferment aus.

Isolierung der Gelasebakterien. Gran nimmt Florideen, kocht diese mit Meereswasser und setzt dann als Impfmaterial ein kleines Stück einer Floridee von derselben Art hinzu. Nach 24 Stunden (bei 20 Grad) sind reichliche Mengen von Bakterien vorhanden und diese werden in einen Agarnährboden übertragen, der aus Agar und einer Abkochung von Florideen hergestellt ist. Man kann auch Meereswasser als Ausgangsmaterial nehmen. Eine Lösung von je 1 g Agar, Kaliumphosphat, Ammoniumchlorid und 30 g Kochsalz in 1 l Leitungswasser wird mit einigen Tropfen Meerwasser infiziert und kräftig geschüttelt. An den sich bildenden Flöckchen sammeln sich Bakterien an und werden diese nun auf Fisch-Salzwasseragar übertragen. Schließlich sind vom Verf. mehrere Varietäten der von ihm Bac. gelaticus benannten Organismen beschrieben. Stutzer (Königsberg).

Kosinski, J., Die Atmung bei Hungerzuständen und unter Einwirkung von mechanischen und chemischen Reizmitteln bei Aspergillus niger. (Pringsh. Jahrb. f. wiss. Botanik. Bd. XXXVII. Heft 1. Leipzig 1901.)

Vorliegende Arbeit, im Institut von Pfeffer ausgeführt, bringt interessante Beiträge zur Physiologie niederer Pilze. Bezüglich der Methodik sei so viel erwähnt, daß gewöhnlich nach Pettenkofer-Pfeffer'schem Verfahren die erzeugte Kohlensäure direkt bestimmt wurde; in einigen Versuchen wurde der Kontrolle wegen mittels des Godlewski'schen Apparates auch die Menge des verbrauchten Sauerstoffs festgestellt und der Quotient $CO_2 : O$ berechnet. Die Ergebnisse sind etwa folgende:

Aspergillus niger stellt den Typus eines Pilzes dar, der nur sehr wenig Vorratsstoffe ansammelt und die aufgenommene Nahrung rasch verbraucht; deshalb verursacht die Entziehung der organischen Nahrung einen Hungerzustand, der zunächst ein plötzliches und erhebliches Sinken der Atmung zur Folge hat; diese geht indessen auf Kosten des in der Zelle

vorhandenen plastischen Materials noch längere Zeit mit abnehmender Energie weiter.

Die lebende Zelle besitzt die Fähigkeit, die Ausdehnung ihrer physiologischen Funktionen, je nach den momentan herrschenden Bedingungen, plötzlich zu ändern; unter diesen Funktionen ist es das Wachstum, das bei Nahrungsmangel zu allererst und vollständig eingestellt wird, um erst nach Zuführung organischer Nahrung wieder zu beginnen.

Der Respirationswert der verschiedenen Kohlenstoffverbindungen ist verschieden; von den drei untersuchten Stoffen erwies sich Zucker als obenanstehend, Weinsäure von geringerem, Glycerin von geringstem Wert, dergestalt, daß — obwohl größere Turgorschwankungen vermieden waren — beim Uebertragen der Pilzrasen aus Zucker- in Glycerinlösung eine Abschwächung, im umgekehrten Fall eine beträchtliche Steigerung der Atemenergie zu beobachten war. Letzterer Befund ist auffallend, da doch sonst das Glycerin den Kohlehydraten physiologisch so nahe verwandt ist.

Plötzliche Steigerung der Konzentration der Nährlösung hat eine Herabsetzung, Verminderung der Konzentration eine Steigerung der Atmungsenergie zur Folge. Die Ursache ist in den Aenderungen des osmotischen Druckes und den hierdurch bewirkten Turgorschwankungen zu suchen.

Bedeutendere mechanische Beschädigung, wie Zerschneiden der Pilzrasen, erhöht die Atmung um $^1/_5$ der anfänglichen Energie; geringere Beschädigungen sind ohne Einfluß.

Ein Zusatz von Zinksulfat (in Konzentration von 0,0005 bis 0,1 Proz.), Eisenchlorid (0,0012—0,06 Proz.), Manganchlorid (0,05 Proz.), sowie von Cocaïn (0,2 Proz.) und Strychninum nitricum (0,02 Proz.) bewirken eine beträchtliche Steigerung der Atemenergie, welche nicht anders denn als Reizerscheinung aufgefaßt werden darf. Desgleichen wird die Respirationsthätigkeit bedeutend erhöht durch Beigabe von Aether (0,25—2 Proz.); bei größeren Gaben sinkt dieselbe, und 5 Proz. Aether verursachen sofortigen Stillstand der Atmung.

Die Ergebnisse sind in 83 Tabellen niedergelegt und auf einer Tafel durch Kurvenbilder veranschaulicht.

Hugo Fischer (Bonn).

Winterstein und **Hofmann,** Zur Kenntnis der stickstoffhaltigen Bestandteile einiger Pilze. (Hofmeister's Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie. Bd. II. 1902. Heft 7/9. p. 404—410.)

Die Arbeit bringt im wesentlichen Angaben über die Spaltungsprodukte der Eiweißkörper von Botulus edulis. Die Einzelheiten sind zum Referat nicht geeignet.

Martin Jacoby (Heidelberg).

Schröder, Zur Kenntnis der Proteinsubstanzen der Hefe. [Aus dem agrikulturchemischen Laboratorium in Zürich.] (Hofmeister's Beiträge zur chem. Physiologie u. Pathologie. Bd. II. 1902. Heft 7/9. p. 389—403.)

Schröder untersuchte die Zusammensetzung der Eiweißkörper, die sich aus der Hefezelle extrahieren lassen. Bei der Spaltung mit Säuren erhielt er Leucin, Tyrosin, Phenylalanin, Lysin, Arginin, Histidin und wahrscheinlich Cystin. Die Untersuchung der schwefelhaltigen Bestandteile und der Kohlehydratgruppen der Proteine der Hefezelle bedürfen nach der Ansicht des Verf.'s noch weiterer Prüfung. Martin Jacoby (Heidelberg).

Noack, Fritz, Die Krankheiten des Kaffeebaumes in Brasilien. Mit Taf. IV. (Zeitschrift f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XI. p. 196—203. Stuttgart 1901.)

I. Cercospora coffeicola Berk. et Cooke. Dieser Kaffeepilz führt in der Heimat den Namen molestia dos olhos pardos, d. h. die Braunaugenkrankheit, wegen der durch sie veranlaßten braunen Blattflecken. Diese sind in der Regel kreisrund oder schwach oval, auf der Unterseite der Blätter hellbraun, auf der Oberseite anfangs dunkler braun, verblassen dann und werden in der Mitte grau. Auch auf die halbreifen Kaffeekirschen geht der Pilz über; diese werden infolgedessen notreif. An den jungen Zweigen konnte Verf., anderen Autoren entgegen, den Pilz nicht beobachten. Auf den Flecken entwickeln sich unter der Epidermis kleine, schwarze Hyphenknäuel, wie Pünktchen aussehend, aus denen die Conidienträger in Form einer Garbe hervortreten. Die Form der Conidienträger, die bis 170 μ lang sind, ist cylindrisch, an der Basis zwiebelförmig angeschwollen; die Sporen sind ebenfalls cylindrisch, an der Spitze lang fadenförmig ausgezogen, gefächert, farblos. Verf. erklärt die Ramularia Goeldiana Sacc. synonym mit vorliegendem Kaffeepilz. Infektionsversuche führen Verf. zu der Annahme, daß eine Infektion durch den Pilz nur nach vorangegangener Verletzung der Epidermis eintreten kann. Insektenstiche oder die Miniergänge der Kaffeemottenlarve an den Blättern begünstigten die Infektion.

II. Mycosphaerella Coffeae n. sp. Dieser Pilz kommt zusammen mit dem obigen auf denselben Blattflecken vor, manchmal ist aber der Blattfleck nur mit den Perithecien der Mycophaerella allein besetzt. Die Fruchtkörper sind sehr klein, schwarz und sitzen in dichtem Rasen dem Rand der Flecken entlang und auf der Fläche des Fleckes gleichmäßig verteilt. Asci ohne Paraphysen, 22—25 μ lang, Sporen liegen zweireihig, sind hyalin, spindelförmig, zweifächerig, in der Mitte eingeschnürt. Eine praktische Bedeutung schreibt Verf. dem Pilz nicht zu.

Auch eine Phyllosticta beobachtete Verf. auf den Flecken oben beschriebener Braunaugenkrankheit.

III. Colletotrichum coffeanum n. sp. Dieser Pilz verursacht auf den Blättern der Kaffeepflanze selbständige Flecke oder findet sich ebenfalls auf den Flecken der Braunaugenkrankheit. Die selbständig gebildeten Flecke sind beiderseits braun, später weißlich vertrocknend, von wechselnder Größe. Auch die Zweige werden vom vorliegenden Pilz befallen. Die flachen Fruchtkörper sind gleichmäßig auf den Flecken verteilt, sie sitzen in der

Epidermis und bilden dort ein etwas dunkelgefärbtes Gymonium mit 18—20 μ langen Basidien, deren Conidien cylindrisch, schwach gekrümmt sind. Zwischen den Basidien finden sich schwarze Borsten, die für die Gattung Colletotrichum charakteristisch sind. Verf. hält es für möglich, daß Gloeosporium coffeanum Delacroix nur ein Jugendzustand des C. coffeanum Noack ist. Ob letzterer als schädigender Parasit anzusehen, ist noch nicht entschieden. Verf. beobachtete ihn stets an Zweigen, die schon durch eine andere Ursache gelitten hatten.

J. Buchwald (Berlin).

Tassi, F., Nova genera fungorum. (Bullett. Laborat. ed Orto botan. Vol. III. p. 89—92. Mit 2 Taf.)

Nachstehende neue Gattungen und Arten werden beschrieben:

Trigonosporium Fl. Tas., „Perithecia subglobosa, vertice, pertusa, membranacea, subcutaneo-erumpentia, sporulae ambitu trigonae, lateribus concaviusculis, continuae, hyalinae, e strato proligero oriundae.“ Durch die sonderbare Form der Sporen ist die neue Gattung stark von allen anderen Sphaeropsideen verschieden.

Hierher die Art: T. australiense Fl. Tas., „Peritheciis sparsis, subglobosis, subcutaneo-erumpentibus, apice poro pertusis, 200—250 μ diam.; contextu minute celluloso, intense fuligineo; sporulis distincte trigonis, e latere visis ellipsoideis vel cylindraceis, aspectu pollinis Grevilleae Banksii, 4—5 μ diam., hyalinis, e strato proligero flavido oriundis.“ Auf toten Zweigen einer Cupania serrata, aus Sydney.

Santiella Fl. Tas., „Perithecia subcarbonacea, discreta, basi insculpta, subsuperficialia, papillata; sporulae breve fusoideae, medio uniseptatae, fuligineae, utrinque locello minuto hyalino auctae.“ Möglicherweise stellt diese Gattung die Pyknidenform von Caryospora vor.

S. putaminum Fl. Tas., „Peritheciis sparsis, globoso-conicis, papillatis, subcarbonaceis, nigris, subsuperficialibus, basi insculptis, facile secedentibus, 200—250 μ diam.; sporulis breve fusoideis, medio uniseptatis, intense fuligineis, non constrictis, crasse bi-guttatis, utrinque locello cupuliformi vel obtusulo, hyalino, auctis, 22—26 $\asymp$ 12 μ.“ Auf faulendem Fruchtfleische von Prunus domestica, im botanischen Garten zu Siena.

S. oblonga Fl. Tas., „Peritheciis subgregariis, oblongis, leniter papillatis, ostiolo anguste elliptico pertusis, subcarbonaceis, nigris, adnato-superficialibus, haud secedentibus, 500 $\asymp$ 250 μ; sporulis subfusiformibus, medio uniseptatis, constrictulis, rufo-fuligineis, crasse biguttatis, utrinque locello rotundato vel subacuto, hyalino, auctis, 28—30 $\asymp$ 14—15 μ.“ Auf faulenden Beeren von Melia Azedarach im botanischen Garten von Siena.

Hyalothyridium Fl. Tas., „Perithecia subcutaneo-erumpentia, globulosa, papillata, subcarbonacea, nigra; sporulae oblongae, pluriseptato muriformes, hyalinae.“ Die Gattung ist ein Camarosporium mit hyalinen Sporen. — Einzige Art:

H. viburnicolum Fl. Tas., „Peritheciis sparsis, globulosis,

primo tectis, demum erumpentibus, nigris, minute papillatis, 180—200 μ diam.; contextu dense celluloso, fuligineo; sporulis oblongo-ellipticis, initio continuis, dein 4—5 septatis, constrictulis, loculis mediis septulis 2—3 longitudinalibus divisis, 18—20 $\asymp$ 10—12 μ, hyalinis." Auf toten Zweigen von Viburnum suspensum, im botanischen Garten von Siena. Solla (Triest).

Mehner, Br., Der Stengelbrenner (Anthracose) des Klees. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, Bd. XI. Heft 4 u. 5. p. 193—196.)

Das bisher nur in Amerika gefundene Gloeosporium Trifolii fand Verf. in der Nähe von Freiberg i. S. an einer ganzen Reihe von Standorten, die Kleefelder schädigend. Schon äußerlich unterscheiden sich die vom Gloeosporium befallenen Pflanzen von denen, die von Pseudopeziza Trifolii angegriffenen dadurch, daß an den Stengeln und Blattstielen lang-elliptische, dunkel gefärbte, von Mycel durchwucherte Flecke entstehen, die zunächst auf die Epidermis beschränkt sind, dann aber bald das ganze darunter liegende Gewebe zerstören und dadurch den oberen Teil der Pflanze zum Absterben bringen. Dieses Absterben und die darauf folgende Braunfärbung der oberen Blätter und Blütenköpfe lassen sich auf dem Felde als leichtes Erkennungsmerkmal bezeichnen.

Die Pykniden entstehen in der etwas helleren Mitte der dunkelbraunen Stengelflecke unter der Cuticula, die sie beim Heranreifen durchbrechen. Die sehr zahlreich abgeschnürten Conidien keimen rasch und erzeugten, im Wassertropfen an Klee gebracht, innerhalb 8 Tagen das typische Krankheitsbild. Besonders leicht und ausgiebig geschah die Infektion, wenn die Epidermis vorher durch zartes Schaben leicht verletzt worden war.

Da der Pilz nur auf Feldern beobachtet worden ist, auf denen amerikanischer Rotklee sich unter der Saat befunden hatte, so ist anzunehmen, daß man es hier mit direkter Einschleppung aus Amerika zu thun hat. Vielleicht wäre durch Saatbeize dem Weiterumsichgreifen der Krankheit Einhalt zu thun. Aber auch deutscher Rotklee wurde, nachdem der Pilz am amerikanischen zuerst aufgetreten war, befallen.

Bekämpfungsversuche sind noch nicht ausgeführt worden, auch stehen Beobachtungen über die Ueberwinterung noch aus.

Appel (Charlottenburg).

King, G. B. und Reh, L., Ueber einige europäische und an eingeführten Pflanzen gesammelte Lecanien. (Jahrb. d. Hamburger wissensch. Anst. Bd. XVIII. 1900. Beiheft 3. p. 3—9.)

Die von King bestimmten Lecanium-Arten werden unter Anführung der zuverlässigen Litteratur beschrieben, wobei eine 1856 durch Fitch von nordamerikanischen Ribes beschriebene Art als nicht sicher erkennbar die neue Benennung Lecanium Rehi erhält. Die Nährpflanzen sind in Deutschland ebenfalls Ribes-Arten.

Ein Eulecanium rosarum wird mit Vorbehalt auf die von Snellen van Vollenhoven und Signoret so benannte Schildlaus zurückgeführt, ferner das von Bouché nur kurz beschriebene Eulecanium vini neu gekennzeichnet. Es findet sich außer an der Rebe noch auf Lonicera, Pirus, Spiraea, Prunus und Robinia; letzteres Auftreten scheint die von Reh bisher angezweifelten Berichte vom Uebergehen der Lecanien von Reben auf Akazien zu bestätigen. — Beigefügt sind eine Zusammenstellung der europäischen Lecanien nach Nährpflanzen, sowie Verzeichnisse der in Gewächshäusern, an Zimmerpflanzen und auf eingeführten Pflanzen gefundenen Lecanien. Jacobi (Berlin).

Timpe, Heinr., Beiträge zur Kenntnis der Panachierung. [Dissertation.] Göttingen 1900. 126 p.

Panachierte Blätter weichen in ihrem anatomischen Bau vielfach vom Normalen ab.

In den farblosen Gebieten haben die Blätter geringere Dicke, die durch schwache Entwickelung der Palissaden und der Intercellularräume bedingt wird. Die Abnahme der Dicke geht parallel mit dem Verschwinden des Chlorophylls. Grenzt das farblose Gewebe unmittelbar an normal chlorophyllführendes, so finden sich auch die extremen Dickenunterschiede unmittelbar nebeneinander; bei ällmählichem Uebergange der Farbunterschiede nimmt auch die Dicke des Blattes allmählich ab.

Dagegen bestehen auch Ausnahmen von der Regel. Treten Schleimzellen auf, so haben die farblosen Teile erheblich weniger.

Zeigt sich Rotfärbung in jugendlichen Blättern, so sind die chlorophyllfreien Stellen stärker (oder ausschließlich) gerötet. Dasselbe gilt für die Färbung erwachsener Blätter und die Herbstfärbung.

Das Maximum des Gerbstoffgehaltes liegt in den chlorophyllfreien Teilen. Verf. macht verschiedene Ausnahmen namhaft.

Stärke fehlt im allgemeinen den farblosen Teilen, bei Hoya variegata und Ilex aquifolium nahmen diese an der Stärkebildung teil, Abutilon Thompsoni ist in den chlorophyllfreien Teilen sogar besonders stärkereich. — Die Stärke der farblosen Blattstellen färbte sich mit Jod rötlich-violett, wenn die Stärkeproduktion unter äußerer Einwirkung von Zuckerlösung vor sich ging. Küster (Halle a. S.).

Wislicenus, H. Zur Beurteilung und Abwehr von Rauchschäden. (Zeitschr. f. ang. Chem. 1901. Heft 28.)

Verf. hat in einem Vortrage, gehalten auf der Hauptversammlung des Vereins Deutscher Chemiker, die Schäden beleuchtet, die der Pflanzenwelt aus der Rauchplage erwachsen und eine Reihe von Thatsachen erbrachte, die in weitgehendem Maße das Interesse des Botanikers fesseln müssen. Führt doch die Rauchschädenfrage fort und fort die mächtigsten Kulturkräfte, die land- und forstwissenschaftliche Bodenkultur und die Industrie zu Streitigkeiten, deren

Schlichtung sich auch zum Teil aus den Arbeiten des Pflanzenphysiologen ergeben kann und muß.

Die im Rauche, den die Schornsteine der Städte, die Schlote der Fabriken in gewaltigen Mengen in die Atmosphäre entlassen, enthaltenen festen Bestandteile, Ruß, sind für die Pflanzenwelt keine Schädlinge, weder dadurch, daß sie den Gasaustausch behindern noch dadurch, daß bei starkem Belag, durch Umwandlung der Sonnenstrahlen in Wärmestrahlen, die Assimilation beeinträchtigt wird. Verf. faßt die Resultate seiner Versuche mit Steinkohlenruß, Braunkohlenruß, mit Rußextrakten, mit Benzinruß dahin zusammen, daß nur die Blattorgane weniger resistenter Pflanzen, der Weiß- oder Hainbuche und Linde, erst nach diesen die Nadeln der Fichte und zwar ausschließlich durch die Extraktstoffe: Phenole, schwefelsaure Salze in einer Weise behelligt werden, welche als geringere Aetzwirkungen zu charakterisieren sind. Augenscheinlich bewirken die eintrocknenden Salze osmotische Wasserentziehung und Austrocknung. Der Ruß selbst kann mit Sicherheit als unschädlich gelten.

Anders die Rauchgasarten, die in verschiedenem Maße, ja zum Teil als gefährliche Schädlinge auftreten. Eingeschaltet möge hier werden, daß Verf. mit einem „Räucherhaus“ experimentierte, durch welches Verf. einen annähernd meßbaren Luftstrom durchschicken konnte. Die Zuluft konnte dann in entsprechender Weise mit dem zu prüfenden Gas beladen werden, so daß während der Versuchsdauer ein giftbeladener Luftstrom ein- und austreten konnte, ohne daß die Konzentration wesentlich geändert wurde. Durch Teilen einer Versuchspflanze mittels Papierwand konnte Verf. mit einem Individuum experimentieren, indem die eine Hälfte in das Räucherhaus ragte, während die andere Hälfte sich normal weiter entwickeln konnte.

Praktisch unschädlich sind die Rauchgase der Holzfeuerung, als schädlich müssen die Abgase der Steinkohlenfeuerung bezeichnet werden, zu denen noch einige seltenere Gase industrieller Betriebe gelegentlich hinzukommen. Kohlensäure und Wasser, die wichtigsten Aufbaustoffe des Pflanzenkörpers können unter Umständen zu Giften werden dann, wenn ihre Menge eine zu große wird. Doch auch dieser Fall dürfte praktisch kaum in Frage kommen, da die Pflanze eine 20-fache Steigerung des Kohlensäuregehaltes der Luft erst als Schädigung empfindet.

Das nur selten in Rauchgasen erscheinende Kohlenoxyd ist schon aus diesem Grunde als Schädling bedeutungslos, dann aber auch deshalb, weil in die Pflanze erst über 10 Proz. CO eine Hemmung der Chlorophyllbildung eintreten soll, was sich vielleicht daraus erklärt, daß Chlorophyll nicht wie Hämoglobin CO bindet.

Die merkwürdige Wirkungsweise der schwefeligen Säure ist noch nicht physiologisch geklärt, nur so viel weiß man, daß die Transpiration ganz enorm durch geringe Mengen herabgedrückt wird. Ihr Haupteinfluß ist ein ganz extremer Eingriff in den Chemismus der Assimilation, der in erster Linie die Aldehyde treffen dürfte, die doch zweifellos als Zwischenstufe der Umwand-

lung der Kohlensäure in Aldehyd und weiter durch Aldolkondensation in Kohlehydrate anzunehmen sind. Aldehyde aber sind zur Aldolbildung und anderen Synthesen am meisten in Gegenwart geringer Mengen Alkali, wohl aber nicht in Gegenwart und in Verbindung von SO^2 und H_2SO_4 befähigt. Aehnliche Störungen sind anzunehmen für das Asparagin und die Eiweißbildung. Wahrscheinlich tritt eine ganze Reihe anderer mechanisch und chemisch physiologischer Wirkungen hinzu, wie osmotische Störungen, Reizerscheinungen, katalytische Giftwirkungen auf das lebende Protoplasma, Beeinträchtigung der Chlorophyllbildung, hydrolytische Verseifung des lecithinartig aufgebauten Chlorophylls, direkte ätzende Zerstörungen u. s. f. Die schwefelige Säure dringt zum Teil als gasförmiges Gift in den Gasaustausch der Pflanze ein; die statische Diffusion führt sie leicht bis zu den Chlorophyllkörpern durch; dort aber wird sie durch vielerlei katalytische Beihilfe schnell durch den nascenten Wasserstoff in Schwefelsäure übergehen, dies um so schneller, je größer die Thätigkeit des Chlorophyllapparates ist. Verf. konnte bei der Fichte mit Sicherheit feststellen, daß zur Nachtzeit und im Winter die Giftwirkung eine weitaus geringere ist, als in den Sommermonaten bei voller Beleuchtung. Das Gift wird in der Zelle aufgespeichert. Seine Wirkung ist aber keineswegs eine Funktion der aufgespeicherten Menge (vielleicht weil seine Wirkung durch Ueberführung in Salze aufgehoben wird, Ref.), eine Annahme, die auch den Umstand erklärt, daß sehr heftige, kurze und plötzliche Angriffe geradezu totbringend wirken, während die analytische SO_3-Zahl nicht wesentlich gesteigert wird, daß aber eine langsame chronische Einwirkung bei hohem SO_3-Gehalt keine Schädigung hervorruft.

Die schädigende Konzentration liegt nach des Verf.'s Versuchen bei einer Konzentration von $^1/_{500000} = 0{,}0002$ Volumproz., 0,01 Volumproz. schwefelige Säure bringt die empfindliche Fichte schon nach wenigen Tagen zum Absterben.

Die nur aus technischen Betrieben stammenden nebelbildenden Säuren, die vermutlich immer gelöst vorkommen, H_2SO_4, HCl, HF, H_2SiF_6 und Fluorsilicium, haben eine von der schwefeligen Säure abweichende akute Wirkung. Die schädlichste Wirkung übt die Kieselfluorwasserstoffsäure, dann das Fluorsiliciumgas und die Fluorwasserstoffsäure aus. Bode (Berlin).

Hattori, H. Studien über die Einwirkung von Kupfersulfaten auf einige Pflanzen. (The Journal of the College of Science of Tokyo. Vol. XV. 1901. Part 3. p. 371—394. Mit 1 Tafel.)

Die Erkrankungssymptome eines Nadelholzzweiges, der in einer sehr verdünnten Kupfervitriollösung verweilte, sind folgende: Der Siebteil erhält zuerst eine gelbbräunliche Verfärbung, die Chlorophyllkörper sind mißgestaltet und schließlich tritt Bräunung der Nadeln ein. Die Verfärbung schreitet nun von unten nach oben fort und zuletzt verbreitet sie sich auf alle Teile des Zweiges.

Die minimale Concentration des Kupfervitriols, welche auf Zweige von Cryptomeria, Pinus und Thuja bereits schädlich einwirken kann, liegt zwischen 0,001 und 0,005 Proz. Thuja ist etwas widerstandsfähiger als die beiden anderen Arten.

Die Gartenerde besitzt eine merkliche Absorptionskraft für Kupfersalze und demgemäß dient sie in ihm erwachsenen Pflanzen als ein entgiftendes Mittel, so daß stark gekupferte Topfpflanzen auf längere Zeitdauer ihre Lebensfähigkeit fortsetzen können.

Die Giftwirkung des Kupfersalzes ist von der Luftfeuchtigkeit abhängig, insofern diese die Größe des Transpirationsstoffes beeinflußt.

Die Wurzeln von Erbse und Mais sind gegen das Kupfer so empfindlich, daß sie bereits in stark verdünnten Kupfervitriollösungen absterben. Am empfindlichsten ist gewöhnlich die Wachstumszone. Die erkrankte Wurzel wird zunächst milchweiß, dann schwach gelblich-braun und schließlich dunkelbraun.

Die minimale Konzentration der Kupfervitriollösung, in welcher die Erbsenwurzeln lebendig bleiben können, liegt zwischen 0,00005 bis 0,00001 Proz. und bei Maiswurzeln zwischen 0,000005—0,000001 Proz. Obschon eine 0,00001-proz. Lösung auf die Wurzeln von Erbse und eine von 0,000001 Proz. auf diejenigen von Mais nicht mehr tödlich einwirken, führen sie doch noch einen schädlichen Einfluß auf den Zuwachs derselben herbei.

In Uebereinstimmung mit früheren Angaben kann das aus Kupfergefäßen destillierte Wasser auch eine tötliche Einwirkung auf die Wurzeln hervorrufen.

Das Kupfer kann als Reizmittel das Wachstum einiger Pilze beschleunigen; die günstige Konzentration liegt bei Penicillium bei etwa 0,008 Proz., bei Aspergillus bei 0,004 Proz.

Die Tafel enthält die Abbildung von 7 Wasserkulturen der Erbse mit und ohne verschiedene Zusätze. E. Roth (Halle).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Albert, R., Buchner, E. und **Rapp, R.** Herstellung von Dauerhefe mittels Aceton. (Ber. deutsch. chem. Gesellsch. 1902. Jahrg. XXXV. Heft 13. p. 2376—2382.)

Die Untersuchung labiler Inhaltsstoffe von lebenden Organismen wird dadurch erschwert, daß beim Tode Veränderungen derselben einzutreten pflegen. So enthält beispielsweise Hefe, die auf gewöhnlichem Wege abgestorben ist, keine Zymase mehr. Die Isolierung dieses Enzymes gelingt nur, wenn die frischen Zellen bei niederer Temperatur getrocknet und erst nachher bis zur Sterilisierung erhitzt werden. Das Verfahren von R. Albert (d. Centralbl. 1901.

p. 473) führt die Hefe durch Eintragen in ein Gemisch von Alkohol und Aether in sterile, haltbare „Dauerhefe“ von 5—8 Proz. Wassergehalt über, welche noch unveränderte Zymase aufweist. Albert's Verfahren hat seitdem in über 60 Einzelfällen sowohl mit Berliner wie mit Münchener Bierunterhefe gute Resultate ergeben. Es zeigte sich aber, daß es dazu genauer Einhaltung der Vorschrift und raschen Arbeitens bedarf; insbesondere muß der Alkohol vollständig abgesaugt und mit Aether schließlich sorgfältig ausgewaschen werden, denn er besitzt bei längerer Einwirkung einen deutlich schädigenden Einfluß auf die Zymase. Verff. haben deshalb versucht, die Anwendung von Alkohol-Aether zu umgehen, und im Aceton einen sehr geeigneten Ersatz gefunden. Das Verfahren zur Herstellung von „Aceton-Dauerhefe“ ist im wesentlichen folgendes: Frische, ausgewaschene Brauereiunterhefe wird bei einem Druck von 15—30 kg auf 1 qcm entwässert. 500 g davon, zwischen den Händen zu einem groben Pulver zerrieben, werden auf einem Sieb in einer flachen Schale in 3 l Aceton eingetaucht und durch Heben und Senken des Siebes vor der Flüssigkeit unter Nachhilfe mit einem Bürstchen in 3—4 Minuten durch die engen Maschen geschwemmt. Die Hefe bleibt nach dem Eintragen unter häufigem Umrühren noch 10 Minuten im Aceton liegen. Hierauf wird nach kurzem Absetzen die Flüssigkeit größtenteils abgegossen und die Hefe in einer Nutsche möglichst trocken abgesaugt. Die grob zerkleinerten Hefekuchen übergießt man aufs neue mit 1 l Aceton, rührt 2 Minuten damit durch und saugt die Flüssigkeit abermals möglichst vollständig ab. Die Masse wird hierauf grob gepulvert und mit 250 ccm Aether übergossen, nach 3 Minuten dauernder Einwirkung filtriert man vom Aether auf der Nutsche ab und breitet die zu feinem Pulver zerriebene Hefe auf mit Filtrierpapier belegten Hürden aus. Nach $^1/_2$ bis 1 Stunde Lagern an der Luft schiebt man die Hürden in einen Trockenschrank von 45° C.

Die so gewonnene Aceton-Dauerhefe stellt ein fast weißes, staubtrockenes Pulver dar, dessen Geschmack im ersten Augenblick wenig ausgeprägt ist, dann aber intensiv an Hefe erinnert. Das Produkt enthält noch 5,5—6,5 Proz. Wasser; die Ausbeute beträgt 30—32 Proz. vom Gewicht der entwässerten Hefe. Bei der Bestimmung der Gärkraft der Aceton-Dauerhefe lieferten 2 g derselben etwa 1 g Kohlendioxyd, was ungefähr 2 g zerlegtem Zucker entspricht.

Nach halbjährigem Lagern bei gewöhnlicher Temperatur hatte die Dauerhefe in einem Fall 10 Proz., im anderen 19 Proz. ihrer Gärwirkung eingebüßt und noch mehr in der Wärme. Die Aceton-Dauerhefe ist, ebenso wie die Alkohol-Aether-Dauerhefe von R. Albert, nicht mehr wachstumsfähig.

Vergleichende Versuche zeigten eine bedeutende Ueberlegenheit des Acetonverfahrens, wahrscheinlich verursacht zum Teil durch die direkt schädliche Wirkung des Alkohols auf die Zymase, zum Teil durch die Erscheinung, daß die Gärung mit Aceton-Dauerhefe

viel rascher einsetzt als mit Alkohol-Aether-Dauerhefe. Worauf der auffallende Unterschied in der Zeitdauer bis zum Eintritt der Gärung beruht, muß vorläufig unentschieden bleiben.

H. Will (München).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Schmidt, H. Ueber die Einwirkung gasförmiger Blausäure auf frische Früchte. (Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. XVIII. 1902.)

Nachdem schon früher Blausäure zur Vernichtung tierischer Schädlinge, namentlich von Schildläusen, Verwendung gefunden, wird in neuerer Zeit von Australien her ein Verfahren bekannt, das zur Konservierung von Früchten dienen soll. Verf. ging an die Frage heran, ob das Verfahren diesen Zweck erfüllt, und ob es ohne schädliche Nebenwirkungen angewendet werden kann. Es zeigte sich, daß alle Früchte, die zur Untersuchung gelangten: Citronen, Aepfel, Birnen, Pflaumen, ganz besonders aber Pfirsiche imstande sind, gasförmige Blausäure aufzunehmen, daß dieselbe aber nur zum Teil wieder abgegeben wird, zum anderen Teil in den Früchten gebunden bleibt, wahrscheinlich in Form eines Cyanhydrins an Zucker angelagert; wenigstens lehrten Versuche, daß Zuckerlösungen bedeutende Mengen von Blausäure binden. Große Blausäuremengen wirken auf die meisten Früchte, ausgenommen Pflaumen, abtötend ein und verändern sie in Farbe und sonstiger Beschaffenheit derartig, daß sie unverkäuflich werden. Schimmelsporen werden selbst durch Konzentrationen, die die Früchte erheblich schädigen, nicht abgetötet; auch entwickelt sich Schimmel auf mit Blausäure behandelten Früchten ganz ungestört. Das australische Verfahren ist also nicht geeignet, Früchte vor Fäulnis zu schützen; dagegen ist es in anderer Hinsicht nicht unbedenklich, weil sowohl die dabei beschäftigten Personen Schaden leiden können, als auch manche Früchte, namentlich Pfirsiche, so große Mengen der Blausäure festhalten, daß beim Genuß dieser Früchte eine Gefahr für die menschliche Gesundheit nicht ausgeschlossen erscheint.

Hugo Fischer (Bonn).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Bowhill, T., Manual of bacteriological technique and special bacteriology. 2. ed. With numerous original. illusts. Roy. 8. p. 340. Edinburgh (Oliver & Boyd) 1902. 21 sh.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Carnot, P. et **Garnier, M.,** Sur la technique des cultures en tubes de sable. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 22. p. 748—750).

Hildebrandt, P., Ueber die Erhöhung des Schmelzpunktes der Gelatine durch Formalinzusatz. (Hygien. Rundschau. 1902. No. 13. p. 638—639).

Mac Leod Harris, N., Concerning an improved method of making collodium sacs. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXII. Orig. 1902. No. 1. p. 74—80.)

Rickards, B. R., A system of recording cultures of bacteria genealogically for laboratory purposes. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 369—370.)

Vaughan, V. C., A tank for the growth of germs in large numbers. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 378—379.)

Wassermann, A. u. **Schütze, A.,** Ueber die Entwickelung der biologischen Methode zur Unterscheidung von menschlichem und tierischem Eiweiß mittels Präcipitine. (Dtsche med. Wchschr. 1902. No. 27. p. 483.)

Winslow, C. E. A., Color standards for recording the results of the nitrite and indol tests. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 373—374.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Alliot, H., Emploi de levures de cannes à sucre pour la fermentation des cidres. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 23. p. 1377—1378.)

Asō, K., On the lime content of phanerogamic parasites. (Bullet. of the Coll. of agricult. Tokyo Imper. Univers. Vol. IV. 1902. No. 5. p. 387—389.)

Blanchard, R., Nouvelle note sur les moustiques. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 23. p. 793—795.)

Bokorny, Th., Ausblicke auf die Stickstoffernährung der Pflanzen, besonders der Pilze. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1902. No. 134. p. 1437—1439.)

Clerfeyt, Ch., Expériences sur l'accoutumance héréditaire des levures aux solutions salines concentrees. (Bullet. de l'Acad. belge d. scienc. 1901. p. 337—351.)

Coutière, H., Sur la morphologie interne du genre Thylacoplethus, parasite grégaire des Alpheidae. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 24. p. 1452—1453.)

Coutts, E. N., Sulphide producing organisms. (Thompson Yates laborat. rep. 1902. Vol. IV. pt. 2. p. 417—429.)

Dewitz, J., La suppression de la métamorphose chez des larves d'insectes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 22. p. 747—748.)

Dorset, M., A note on branched forms of tubercle bacilli found in cultures. (Science. N. S. Vol. XV. 1902. p. 371.)

Lühe, M., Ueber Geltung und Bedeutung der Gattungsnamen Eimeria und Coccidium. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXI. Orig. 1902. No. 15. p. 771—773.)

Pappenheim, A., Neuere Arbeiten über die Struktur der Bakterien. (Verhandl. d. nat. Ver. in Hamburg. Bd. IX. 1902. p. XXVIII—XXIX.)

Phisalix, G., Polymorphisme des Pasteurella. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 20. p. 645—648.)

Rabenhorst's, L., Kryptogamen-Flora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz. 2. Aufl. Bd. I. 7. Abt. Pilze. 84. Lfg. Fungi imperfecti. Bearb. v. Andr. Alle-

scher. p. 577—640 m. Abbildgn. gr. 8⁰. Leipzig (Eduard Kummer) 1902. 2,40 M.

Sedlaczek, W., Ueber den Darmkanal der Scolytiden. (Centralbl. f. d. ges. Forstwesen. 1902. Heft 6. p. 241—263.)

Theobald, F. V., The classification of the Anophelina. (Journ. of tropical med. Vol. V. 1902. No. 12. p. 181—183.)

Ward, M., A conjugating „yeast". (Philosoph. transact. of the R. Soc. of London. Vol. CXCIV B. 1901. p. 467—485.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Bier, Brauerei.

Delbrück, M., Der Vergärungsgrad. (Wchschr. f. Brauerei. 1902. No. 29. p. 397—400.)

Wein, Weinbereitung.

Windisch, K., Ueber essigstichige Weine und deren Behandlung. (Weinbau u. Weinhandel. 1902. No. 28. p. 297—298.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Hesse, W., Die Reinigung kommunaler Abwässer mittels des Oxydationsverfahrens. (Hygien. Rundschau. 1902. No. 5, 6. p. 217—229, 272—284.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Berlese, A., Importanza nella economia agraria degli insetti endofagi distruttori degli insetti nocivi. 27 p. con 12 fig. 8⁰. Portici. (Stab. tipogr. Vesuviano). 1902.

Connold, E. T., British vegetable galls. XII. 312 pp. with 13 pl. and 27 text-fig. New York (E. P. Dutton & Co.) 1902.

van Hall, C. J. J., Het aardappelschurft. (Tijdschr. over plantenziekt. Aflev 3. 1902. p. 89—106.)

Hennings, P., Beobachtungen über das verschiedene Auftreten von Cronartium ribicola Dietr. auf verschiedenen Ribes-Arten. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XII. 1902. Heft 3. p. 129—132.)

Jahresbericht, 11., des Sonderausschusses f. Pflanzenschutz 1901. Bearb. von den Inhabern der Auskunftsstellen f. Pflanzenschutz: Brick, Edler, Gisevius u. A., sowie der biolog. Abteilg. f. Land- u. Forstwirtschaft am kaiserl. Gesundheitsamt Berlin und einer Anzahl von Landwirtschaftsbeamten und Landwirtschaftslehrern, zusammengestellt von Sorauer und Hollrung. XXIV. 336 p. (Arb. d. deutsch. Landwirtsch.-Ges. Hrsg. vom Direktorium. 71. Heft.) gr. 8⁰. Berlin (Paul Parey) 1902. 2 M.

Polak, R. A., Het leven van eenige merkwaardige en schadelijke insekten. 8⁰. Amsterdam (Allert de Lange) 1902. 1 fl. 75 c.

Premi, E., Guardiamoci dalle crittogame! Breve istruzione popolare sui mezzi di lotta contro l'antracnosi, l'oidio e la peronospora. 19 p. Siena.

Prunet, A., Sur le traitement du Black rot. (Compt. rend de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 2. p. 120—123.)

Sajó, K., Weitere Mitteilungen über die meteorologischen Ansprüche der schädlichen Pilze. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XII. 1902. Heft 3. p. 151—157.)

Staes, G., Een nieuw middel tegen den echten meeldauw of het Oïdium van den wijnstok. (Tijdschr. over plantenziekt. 1902. Aflev. 3. p. 106—107.)

Suzuki, U., Oberservations on the mulberry dwarf troubles (Schrumpfkrankheit), a disease widely spread in Japan. (Bullet. of the Coll. of agricult. Tokyo Imper. Univers. Vol. IV. 1902. No. 5. p. 359—360.)

Vermorel et **Gastine**, Sur un nouveau procédé pour la destruction de la pyrale et d'autres insectes nuisibles. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 1. p. 66—68.)

Weiss, J. E., Die wichtigsten Krankheiten und Schädlinge der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen und Obstbäume in Bayern im Jahre 1901. 4. Der Steinbrand des Weizens (Tilletia Caries). 5. Der Flug- oder Staubbrand des Getreides (Ustilago segetum). 6. Der Getreidehalmrost (Puccinia graminis). (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1902. Heft 6. p. 41—42.)

Weiss, Neuere Beobachtungen über die Schrotschußkrankheit des Steinobstes (Clasterosporium Amygdalearum). (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1902. Heft 8. p. 57—60.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 31. Oktober 1902. **No. 16.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Versuche über die Verwesung pflanzlicher Stoffe.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Privatdocent Dr. **Oskar Bail**, Assistenten des Institutes[1]).

(Fortsetzung.)

Nach 5 Tagen ist die Flüssigkeit bei weiter bestehender saurer Reaktion weißlich trüb, ohne besonderen Geruch und läßt mikroskopisch neben wenigen Pilzelementen massenhaft Hefen und kurze, plumpe, oft in kurzen Ketten angeordnete Stäbchen erkennen. Kulturell 100 000 Hefen, ebensoviel Bacillus α, 200 Pilzmycelien.

1) Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Litteratur in Böhmen.

Nach 7 und 9 Tagen der gleiche Befund.

Nach 11 Tagen ist der Geruch der noch sauern, dicht trüben, nach einigem Stehen an der Luft dunkler werdenden Flüssigkeit ausgesprochen „tabakartig“. Mikroskopisch treten neben den bisherigen Formen noch längere Stäbchen auf, doch lassen sich kulturell nur die bisherigen Arten gewinnen, sämtlich, mit Ausnahme des spärlich vorkommenden Pilzes, in großer Zahl.

Nach 13 Tagen tritt der den Modergeruch hervorbringende Bacillus und zwar sofort in beträchtlicher Zahl auf, überdies verflüssigende Bakterien in geringer Zahl.

Nach 15 Tagen sind im Versuchscylinder die Blätter bis auf die gröberen Nerven so gut wie unkenntlich geworden. Die übrig gebliebene Masse liegt am Grunde des Gefäßes von einer dicklichen, braunen, nachdunkelnden schwach sauren Flüssigkeit umgeben, und riecht „tabakartig“ und dabei modrig.

Kulturell müssen die verflüssigenden Stäbchen sich enorm vermehrt haben, da sie sämtliche, etwas zu spät untersuchte Platten ganz oder fast ganz verflüssigt haben.

Nach 17 und 19 Tagen im wesentlichen der gleiche Befund.

Nach 22 Tagen ist die fast schwarze, rein modrig riechende Flüssigkeit fast neutral geworden. Kulturell ist eine genauere Zählung wegen rapider Verflüssigung nicht mehr durchzuführen, doch ist das Zurücktreten des Bacillus α, der schon in den früheren Untersuchungen spärlicher geworden war, sowie das der Hefen ebenso zweifellos wie das Herrschen des verflüssigenden und des modrig riechenden Stäbchens.

Nach 25 Tagen treten 2 neue sporadische Formen auf, die in sehr geringer Zahl vorhanden, schon am 28. Tage nicht mehr aufzufinden sind. Sonst ist der Befund der gleiche, wie vorher gewesen.

Nach 31 Tagen sind die Blätter ganz am Grunde des Cylinders zu einem unansehnlichen, dunkelschwarzbraunen Häufchen zusammengesunken, welches von trüber, dunkelbrauner, bei längerem Stehen an der Luft schwärzlich-violett werdender, deutlich alkalischer, stark modrig riechenden Flüssigkeit umspült ist. Auf den Platten, welche einer sehr raschen Verflüssigung unterliegen, sind Hefen und Pilze gar nicht mehr, der Bacillus α nur spärlich aufzufinden, in überaus großer Anzahl aber der verflüssigende und etwas weniger reichlich der modrig riechende Bacillus.

Nach 40 Tagen trat der von früher her bekannte Bacillus auf, dessen Kolonieen und Sphärokrystallen von $CaCO_3$ bedeckt waren. Er vermehrte sich in der Folge reichlich. Auch bisher nicht gefundene Formen traten auf; doch blieb der verflüssigende Typus γ weitaus herrschend. Hefe und Bacillus α waren zur Zeit des Abbruches des Versuches nicht mehr, der Schimmelpilz nur sehr selten vorhanden. Von den Blättern war nach 45 Tagen nur ein kleines, schwarzbraunes, zerfließendes Häufchen übrig.

Rh. 5.

100 g sterilisierte Rheum-Blätter wurden aus der 11 Tage der Verwesung überlassenen Probe Rh. Ib geimpft. Die Impf-

flüssigkeit lieferte bei der Plattenuntersuchung nur Hefen und Bacillus α in sehr großer, Pilze in sehr geringer Zahl.

Nach 2 Tagen ergiebt die Plattenuntersuchung der wenig trüben, stark sauren Flüssigkeit 50000 Kolonieen des Bacillus α, 17000 Hefen und 1700 Mycelien, alle einer Pilzart angehörend.

Nach 4 Tagen ist die Flüssigkeit dicht trüb geworden, ist sauer, ohne besonderen Geruch. 1230 Pilzmycelien, 32000 Hefen, 10000 Bacillus α.

Nach 6 Tagen nicht wesentlich anders.

Nach 8 Tagen sind die Blätter im Cylinder bereits deutlich zusammengesunken, ohne besonderen Geruch. Die Flüssigkeit ist gelbrot, dicht trüb, sauer und liefert 40000 Hefe, 21000 Bacillus α, wenig Mycelien, einige wenige Kolonieen des verflüssigenden Typus γ, sowie in etwa 1000 Kolonieen den modrig riechenden Bacillus.

Nach 11 Tagen 20000 Hefen, 20000 Bacillus α, 2000 Kolonieen des modrig riechenden, 200 des verflüssigenden Stäbchens.

Der Befund bleibt wesentlich der gleiche bis zum 18. Tage, wo das Auftreten eines stark „tabakartigen“ Geruches in der viel schwächer saueren Masse zu konstatieren ist und gleichzeitig auch ein starkes Ansteigen der Zahl der verflüssigenden Keime.

Nach 21 Tagen sind die Blätter ganz zusammengesunken, dunkel gefärbt, von rein „tabakartigem“ Geruche. Die angesammelte, an Menge stark vermehrte Flüssigkeit ist dick trüb, wenig sauer. Eine Zählung der aufgehenden Kolonieen ist wegen der schnellen Verflüssigung fast unmöglich, doch läßt sich erkennen, daß Hefe und Bacillus α auf Kosten von γ stark abgenommen haben müssen.

Nach 24, 27 und 30 Tagen wird der Geruch der kaum noch sauer reagierenden Masse modrig; die verflüssigenden Bakterien beherrschen weitaus das Feld, daneben ist der modrig riechende Bacillus häufig.

Nach 33 Tagen sind die Blätter völlig unkenntlich, ganz zu einer schwarzbraunen, modrig und dabei noch „tabakartig“ riechenden Masse, die nur sehr wenig sauer reagiert, zusammengesunken. Der verflüssigende Typus γ ist neben dem modrig riechenden Bacillus fast allein vorhanden.

Zur Zeit des Abbruches des Versuches (7 Wochen) reagiert die ganz unkenntlich gewordene Masse alkalisch. Aus der reichlich vorhandenen Flüssigkeit läßt sich nur der verflüssigende Typus und der Moderbacillus neben sehr wenigen Schimmelpilzen gewinnen. Hefe und Bacillus α fehlen ganz, gehen aber noch auf Platten auf, die mit Bestandteilen der Blattmasse selbst angelegt wurden. Doch herrscht auch hier der verflüssigende Mikroorganismus weitaus vor.

Ein Ueberblick der ganzen Versuchsreihe läßt eine gewisse Gesetzmäßigkeit des bakteriologischen Befundes nicht verkennen. Das frisch geimpfte Material, von stark saurer Reaktion, ist offenbar nur relativ wenigen Mikroorganismen zugänglich. Darunter sind es namentlich Hefen, die den ersten Platz einnehmen und sich gewaltig vermehren. Schimmelpilze sind an sich dazu ebenfalls be-

fähigt. Versuche mit den gewöhnlichen Arten, Penicillium, Mucor zeigten, daß sie auf gekochten Rheum-Blättern sehr gut ihr Fortkommen finden, und wie die energische CO_2-Produktion zeigte, das Substrat beträchtlich angreifen können. Um so auffälliger war es, daß sie im Vergleich zu den Hefen niemals in nennenswerter Anzahl auftraten, so daß ein Mycelüberzug, der bei künstlicher Impfung mit Reinkulturen schon nach 2—3 Tagen sichtbar wurde, bei den Verwesungsproben, mit sehr wenigen Ausnahmen, ausblieb. Nicht minder auffallend war es, daß immer nur eine Form von Fadenpilzen vorhanden war und daß Mucor, der im Ausgangsmaterial der beschriebenen Reihe und auch einiger später zu erwähnender, mit Sicherheit nachgewiesen wurde, bald verschwand. Aber auch der mit großer Regelmäßigkeit durch die ganze Versuchsreihe auftretende Pilz blieb nicht nur spärlich, sondern trat auch oft erst in späteren Stadien der Verwesung auf und war, wie die späteren Versuche mit Reinkulturen ergaben, höchstens von sekundärer Bedeutung.

Ueber die Hefen, welche bei diesem Zersetzungsprozesse thätig eingreifen, ist bereits an anderer Stelle[1]) berichtet worden. Sie sind in den ersten Stadien der Verwesung weitaus vorherrschend, ihr Auftreten ist ein völlig konstantes. Ebenso zeigt die Abnahme ihrer Zahl eine nicht zu verkennende Gesetzmäßigkeit: sie fällt zusammen mit dem Nachlassen der sauren Reaktion einerseits, dem Auftreten verflüssigender Bakterien andererseits. Selbstverständlich handelt es sich hierbei nicht um absolut scharfe Grenzen. Vollständig verschwindet die Hefe oft erst recht spät und selbst dann, wenn sie in der abgeschiedenen Flüssigkeit nicht mehr aufzufinden war, konnte sie aus der Blattmasse selbst noch gezüchtet werden, oder bewies wenigstens ihr Vorhandensein durch Wiederaufleben bei der Uebertragung auf frische Blätter. Ebenso traten bisweilen verflüssigende Stäbchen schon sehr frühzeitig mitten unter den Hefen auf, aber das Uebergewicht erlangten sie doch erst in späteren Stadien.

Die Bedeutung der Hefen liegt zweifellos in ihrer Fähigkeit, die saure Reaktion des Mediums herabzusetzen, wie dies am schönsten bei Versuchen mit Flüssigkeiten, die aus Rhabarberblättern gewonnen sind, hervortritt. Eine vollständige Neutralisation durch bloßes Hefewachstum wurde allerdings nicht beobachtet, so daß das schließliche Alkalischwerden der Blattmasse auf die Hefe allein nicht bezogen werden kann. Das ist aber auch für die die Sporenpilzvegetation ablösende Bakterienflora nicht absolutes Erfordernis.

Diese Ablösung erfolgt, wie aus den mitgeteilten Versuchsreihen ganz unzweifelhaft hervorgeht, durch verflüssigende Bakterien (Typus γ). Eine umständliche Beschreibung derselben kann unterbleiben, da dieselben in jeder Beziehung mit dem gewöhnlichen Bacillus subtilis übereinstimmen. Das Verflüssigungsvermögen für Gelatine ist sehr stark; die schöne Deckenbildung

1) Centralblatt für Bakteriologie. Abteilung. II. Bd. VIII. No. 18, 19. Die bei den erwähnten Versuchen thätige Hefe ist als No. III beschrieben.

in der fast ganz klar bleibenden Bouillon, sowie in bereits verflüssigten Gelatinestichkulturen, die Beweglichkeit, die Sporenbildung und Sporenkeimung sichern die Diagnose. Auch die Fähigkeit des Heubacillus, in mäßig sauren Medien üppig zu gedeihen, spielt hier eine Rolle: sobald durch die Sporenpilzvegetation die übermäßige freie Säure aufgezehrt ist, findet er ähnliche Bedingungen für sein Wachstum wie in einem künstlich dargestellten Heuinfus.

Eine sinnliche Veränderung der Blattmasse schließt sich an das Auftreten der Heubacillen an: es ist die Entwickelung des eigenartigen, hier kurz, aber sicher nicht völlig zutreffend, als „tabakartig" bezeichneten Geruches. Auch das rasche Zusammensinken und Weich-, selbst Schmierigwerden der Blätter fällt zeitlich ungefähr mit dem Auftreten dieses Mikroorganismus zusammen.

Die überaus starke Zunahme des Bacillus subtilis, etwa von der 2. oder 3. Verwesungswoche an, die sich weiterhin fast bis zur Alleinherrschaft erhebt und die, wie einige weiter fortgeführte Versuche zeigen, auch über den als Abbruchstermin gewählten Zeitpunkt hinausgeht, dürften bereits die weiterhin zu beweisende Vermutung rechtfertigen, daß er eine Hauptrolle bei der Verwesung pflanzlicher Stoffe spielt. Seine ungeheuere Verbreitung im Freien gerade an vegetabilischem Material könnte leicht hierfür als weiterer Beweis herangezogen werden [1]).

Viel weniger sicher als für die Sproßpilze und den Bacillus subtilis läßt sich eine ausschlaggebende Bedeutung des modrig riechenden Bacillus β und des im Anfange der Verwesung auftretenden Bacillus α behaupten.

Der erstere ist in seinem Auftreten recht unregelmäßig, und namentlich ein an bestimmte Verwesungsperioden anschließendes, quantitatives Ansteigen oder Absinken würde sich nur ziemlich künstlich herausrechnen lassen. Versuche mit Reinkulturen bewiesen seine Entbehrlichkeit für die Erreichung des Hauptstadiums der Verwesung ganz unzweideutig. Immerhin beweist sein regelmäßiges Auftreten in allen Impfversuchen, daß er sowohl dem Nährmedium als der Konkurrenz der übrigen Mikrobien recht gut angepaßt sein muß und wenigstens ein recht auffälliges, wenn auch wahrscheinlich nicht wesentliches Kennzeichen verwesender Rheum-Blätter bringt er hervor: den eigenartigen Modergeruch späterer Stadien. Es war nicht die kleinste Ueberraschung, die Entstehung desselben auf Spaltpilze zurückführen zu müssen, während von vornherein Schimmelpilze als Erreger eines solchen Geruches zu erwarten waren. Es ist ein eigenartiger, schwer zu beschreibender Geruch, der anfänglich neben dem „tabakartigen" besteht, dann aber vorherrscht.

Der Mikroorganismus ist ein mittellanges, ziemlich plumpes, bewegliches Stäbchen, das sich mit den gebräuchlichen Farblösungen gut färbt.

1) Es sei hier daran erinnert, daß auch Müntz und Coudon (Compt. rendus. 1893. p. 365) die Bildung von NH_3 bei der Verwesung im Boden auf Organismen zurückführen konnten, die selbst eine Temperatur von 110° vertrugen.

Seine Kolonieen auf Rheum-Gelatineplatten sind schon am 2. Tage gut entwickelt; die oberflächlichen sind halbkugelig, glatt, scharf rund, gelbbraun granuliert, die tiefen kleiner, dunkler, sonst mikroskopisch von gleichem Aussehen. Meist schon am 3. Tage, selten später, treten an den inzwischen gut hirschkorngroß gewordenen Oberflächenkolonieen vom Rande her helle, radienartige Linien bis etwa $^1/_3$ des Halbmessers hervor, welche späterhin den Rand der Kolonie rosettenförmig zerteilen. Auch die tiefen Kolonieen werden etwas unregelmäßig rosettenförmig, ein so charakteristisches Bild, daß es sofort die Diagnose ermöglicht. Alle Platten verbreiten einen starken Modergeruch, der vollständig die Eigenart des den verwesenden Blättern anhaftenden hat. Auf Platten mit Fleischwasserpeptongelatine treten die gleichen Merkmale auf; die Kolonieen werden meist etwas größer und umgeben sich bei höherer Temperatur und weicherer Gelatine öfters mit einem grauen Hof ausschwärmender Stäbchen. Verflüssigung erfolgt nicht. Im Gelatine- und Rheum-Gelatinestich erfolgt gutes Stichwachstum in Form eines grauweißen Streifens und Oberflächenwucherung in Gestalt einer flach erhabenen, glatten, unregelmäßig rundlichen Auflagerung,

Agarstriche entwickeln sich bei 27° bereits nach 24 Stunden zu einer glatten, glänzenden, grau durchscheinenden, wenig charakteristischen Auflagerung.

Auf saurer Kartoffel erscheint ein saftiger, später abflachender, glatter, gelbgrüner Belag.

Bouillon wird gleichmäßig, aber nicht sehr intensiv getrübt; später bildet sich ein Bodensatz von mäßiger Stärke.

Aehnlich ist das Wachstum in neutralisiertem Rheum-Saft. War demselben die natürliche, saure Reaktion belassen worden, so fand ebensowenig eine Entwickelung statt, wie auf frischen sterilisierten Rheum-Blättern. War im nicht veränderten Rheum-Safte vorher 14 Tage lang die Hefe gezüchtet, dann durch Filtrieren entfernt worden, so erfolgte Wachstum, ähnlich wie nach künstlicher Neutralisation derselben, wenn auch schwächer[1]).

Eigenartig in vieler Hinsicht ist das Auftreten des als Bacillus α bezeichneten Mikroorganismus. Es ist ein kurzes, bis höchstens mittellanges, in Rheum-Nährböden und auf Kartoffel plumpes, in den sonstigen üblichen Medien etwas dünneres, unbewegliches Stäbchen, mit einer Neigung zur Bildung kurzer Fäden in flüssigen Nährstoffen.

In Rheum-Gelatineplatten werden seine Kolonieen am 3. Tage als winzige runde, hellgranulierte Scheiben sichtbar, wachsen dann nur wenig weiter, und zwar besser auf saurer als auf neutralisierter Rheum-Gelatine. Schließlich nach 8 Tagen werden die oberflächlichen Kolonieen stecknadelstichgroß, bleiben rund und gewölbt und zeigen eine tiefgelbbraune Granulation.

Auf gewöhnlicher Gelatine ist das Aussehen der winzig klein bleibenden Kolonieen ähnlich.

1) Das gleiche Verhalten gegenüber Rheum zeigte auch der als Bacillus γ bezeichnete Heubacillus.

Im Rheum-Gelatinestich erfolgt mäßiges graues Wachstum im Stichkanale; wenn Oberflächenwucherung überhaupt erfolgt, so beschränkt sie sich auf das Auftreten einer sehr kleinen, grauen Kuppe; auch in dieser Anwendung erwies sich der natürlich sauer belassene Nährboden als der bessere. Entsprechend war die Entwickelung in saurer Würzegelatine, bisweilen begleitet von einer geringen Gasentwickelung, während in Fleischwasserpeptongelatine nur minimales Wachstum im Stich eintrat. Nach mehrfacher Ueberimpfung besserte es sich zwar etwas, blieb aber immer nur dürftig.

Auf schrägem Agar mußte ziemlich reichliche Impfung erfolgen, um winzig kleine Kolonieen aufgehen zu lassen.

Den besten festen Nährboden lieferte die saure Kartoffel. Hier entstand bei 27° schon am Ende des 2. Tages eine feuchte, farblose, schwer zu erkennende, aber immerhin relativ recht starke Auflagerung.

Von flüssigen Medien ist die gewöhnliche Bouillon oder künstliche Salzlösung mit Pepton als N-Quelle wenig günstig. Es entsteht erst nach 3 Tagen bei 37° eine geringe Trübung, meist ausgehend von kleinen Flöckchen am Boden, die am 2. Tage auftreten. Das Wachstum wird aber sofort verbessert durch Zusatz von C-Quellen. Von denen die unsersucht wurden (2-proz. Lösungen in Salzlösung mit 1 Proz. Pepton Witte) erwiesen sich als wachstumsfördernd: Traubenzucker, Arabinose, Maltose, Dextrin. Hier bildete sich schon am 2. Tage Trübung und ansehnlicher, den ganzen Boden des Zuchtkölbchens bedeckender Satz. Wenig fördernd wirkten Rohrzucker, Milchzucker, Raffinose, Stärke und Glycerin.

Mit dem Auftreten von Wachstum ging sofort eine Ansäuerung des Nährbodens einher. Die gebildete Säure war zum größten Teil Milchsäure. Es war Säure gebildet nach 7 Tagen

2 Proz.	Traubenzucker	entsprechend	24,3	ccm $^1/_{10}$ NaOH
2 „	Maltose	„	17,2	„ „ „
2 „	Arabinose	„	5,4	„ „ „
2 „	Dextrin	„	8,5	„ „ „
2 „	Glycerin	„	0,0	„ „ „
1 „	Stärke	„	0,8	„ „ „
2 „	Rohrzucker	„	7,0	„ „ „
ohne C-Quelle		„	0,0	„ „ „
Vor dem Versuch			neutral.	

In natürlich saurem Rheum-Saft erfolgt recht reichliches Wachstum, anfangs in Gestalt bodenständiger, leicht zerstäubender Wölkchen, dann trübend. Unter ansehnlicher, aber nur kurze Zeit andauernder CO_2-Bildung kommt es dabei ebenfalls zur Vermehrung der bereits vorhandenen Säure:

	vor Einsaat	nach Einsaat von α	
Versuch A 100 ccm Rheumsaft	24,0	(18 Tage) 28,4	ccm $^1/_{10}$ NaOH per 100 kcm
„ B 100 „ „	21,0 [1]	(30 Tage) 44,0	„ „ „ „ 100 „

Auf sterilisierten Rhabarberblättern erfolgt reichliches Wachstum, ebenfalls mit starker, aber bald nachlassender CO_2-Bildung

1) Die beiden Rheum-Säfte waren zu verschiedenen Zeiten hergestellt worden. Der Säuregrad ist dabei niemals ein übereinstimmender gewesen.

und Verstärkung der an sich sauren Reaktion (s. unter Versuchen mit Keimkulturen).

Es ist nicht ganz leicht, sich über die Bedeutung der Vegetation dieses Bacillus klar zu werden. Daß ihm eine solche, wenigstens für die besprochene Versuchsserie, zukommen muß, beweist sein regelmäßiges Auftreten in großer Menge gerade in den ersten Zeiten. Daß wenige eingebrachte Keime zur Entwickelung dieser starken Anfangsvegetation genügen müssen, beweist am besten der Versuch Rh. Ib, wo nach allen gemachten Erfahrungen nur minimalste Mengen von Bacillus α in der Impfflüssigkeit gewesen sein können. Auch seine ganz ausgesprochene Bevorzugung relativ sehr stark saurer Medien, für welche nicht viele Spaltpilze sonst als Analoga angeführt werden können, deutet auf eine besondere Anpassung an frische Pflanzenteile hin. Aber zwischen seiner und der Wirksamkeit der neben ihm ebenfalls in Massen vorhandenen Hefen scheint auf den ersten Blick ein Widerspruch zu bestehen. Während die Versuche ergeben, daß die bei der Verwesung zunächst thätigen Mikroorganismen auf eine Alkalisierung der Blättermassen hinarbeiten, tritt gerade am Anfang ein das Gegenteil herbeiführender Mikroorganismus in Menge auf.

Nur die Erkenntnis, daß die Hauptwirkung der Sproßpilze in der durch sie veranlaßten Verbrennung der organischen Säuren liegt, giebt hierüber Aufschluß. Denn die aus den Kohlehydraten seitens des Bacillus α gebildete Säure (jedenfalls zum größten Teile Milchsäure) ermöglicht bei ihrem hohen Werte als C-Quelle[1]) eine üppigere Vegetation und Ernährung der Hefe. Es wäre möglich, daß der Hefe noch eine andere Funktion außer ihrer Säureverbrennung zukommt, und daß sie hierin durch die Ermöglichung besseren Wachstums seitens des Bacillus α unterstützt wird. Die Beobachtung der CO_2-Produktion bei Impfung mit Reinkulturen spräche für diese Annahme. Ein sicherer, durch Analysenergebnisse zu liefernder Beweis konnte dafür, wegen der bisher nicht überwundenen Schwierigkeit der Verarbeitung sehr großer Materialmengen, noch nicht erbracht werden. Danach wäre die Bedeutung der α-Vegetation eine zweifache: direkt, insofern dadurch der Kohlehydratvorrat (Zucker, Dextrin und vermutlich auch Stärke) der Blätter angegriffen wird, indirekt, durch Ermöglichung eines ausgiebigeren Hefewachstums.

Was den in dieser Versuchsserie aufgetretenen Pilz betrifft, so erscheint er auf Rheum-Gelatineplatten nach 24 Stunden als kleines, ungefähr strahlig ausgebreitetes Mycel, das rasch heranwächst und nach 5 Tagen in Form gelatinös aussehender, 4—6 mm breiter, gewölbter runder Scheiben in der langsam erweichten Gelatine liegt. In Würzegelatine ist das Wachstum merkbar besser. Die vom 2. Tage an sehr dicht gestellten, ziemlich zarten Hyphen beginnen sich am 3. Tage mannigfach zu verbiegen und zerfallen dabei vom Centrum gegen die Peripherie hin in eine große Zahl kurz cylindrischer, meist vakuolisierter Teilstücke, die auf frischen festen

1) Laurent, Annales de l'Institut Pasteur. 1889. p. 113.

Nährböden wieder zu typischen, radiären Mycelien heranwachsen. In Rheum-Saft bei freiem Luftdzutritt entstehen daraus mehr oder weniger lange, meist stark vakuolisierte Hyphen, die entweder in Seitensprossen oidiumartig ebensolche, kurz cylindrische Conidien abschnüren, oder auch dem größten Teil ihrer Länge nach, mit Ausnahme der Wachstumsspitze in solche zerfallen. Bei beschränktem Luftzutritt entstehen von vornherein fast nur solche Conidien. Eine genauere Untersuchung ist bisher noch nicht durchgeführt, weil die Bedeutung des Pilzes für die Verwesung nicht groß sein dürfte. Die bereits oben angeführten, aus dem Verlaufe der Verwesung abgeleiteten Verhältnisse einerseits, die Versuche mit den Reinkulturen andererseits rechtfertigen diese Annahme.

Die Fähigkeit, Säure zu verzehren, kommt ihm wie der Hefe, aber in etwas schwächerem Grade zu:

		vor Einsaat	18 Tage nach Einsaat
Hefe:	100 ccm Rheumsaft	24 ccm	1,4 ccm $^1/_{10}$ NaOH
Pilz:	100 „ „	24 „	2,8 „ „ „

Vermutlich ist seine Bedeutung für die Zersetzung der Blätter die gleiche. Gerüche bringt er auch auf Rheum-Blätter keine hervor.

Versuche mit Reinkulturen.

Das Ergebnis der fortlaufenden bakteriologischen Untersuchung wies mit ziemlicher Bestimmtheit auf die Hefe, die Bacillen α und γ als die veranlassenden Momente der CO_2-Produktion, des Zusammensinkens und Erweichens der Blätter, der Aenderung des Geruches und der sauren Reaktion hin.

Diese Veränderungen mußten gleichzeitig die Kriterien für die durch die Impfung mit Reinkulturen gesetzte Verwesung abgeben. Der Pilz, sowie der modrig riechende Bacillus erschienen, was auch die weitere Untersuchung bestätigte, unwesentlich zu sein. Immerhin mußten auch sie beide geprüft werden. Gelang es mit diesen Mikroorganismen allein, oder mit einer Kombination derselben einen ähnlichen Zersetzungsvorgang wie nach Impfung mit natürlich verwesendem Material herbeizuführen, so war wenigstens das Anfangsstadium der bei Luftzutritt stattfindenden Veränderung der pflanzlichen Substanz aufgeklärt und es erschien unnötig, die zahlreichen im Ausgangsmateriale gefundenen Mikrobien in zahlreichen Kombinationen zu prüfen.

Es mußte selbstverständlich die Wirkung jedes einzelnen Mikroorganismus, wie die zweier oder mehrerer zugleich auf sterilisierte Rheum-Blätter untersucht werden. Für die letztere Aufgabe schien der Weg in einer Nacheinanderimpfung derselben Blätter mit den betreffenden Formen durch das Ergebnis der angeführten kulturellen Ergebnisse vorgezeichnet zu sein. Denn daraus ging deutlich die Succession von Bacillus γ (mit oder ohne den modrig riechenden Bacillus β) auf die Vegetation von Hefe + Bacillus α hervor. Da aber auch die Impfung mit ganz unreinem Materiale (s. Versuch Rh. Ib) zu der gleichen Succession

von selbst geführt hatte, so erschien es einfacher, von vornherein alle diejenigen Mikroorganismen, deren gemeinsame Wirkung zu untersuchen war, gleichzeitig auf Rheum-Blätter zu bringen und ihre Vermehrung durch Plattenkulturen festzustellen.

Als Vorversuche sind diejenigen zu betrachten, wo „Rheum-Saft" als Nährmaterial diente. Derselbe befand sich zu je 100 ccm in flachbodigen, breiten Kolben, die in der zur CO_2-Bestimmung üblichen Weise mit doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen waren.

Tägliche CO_2-Produktion in ccm.

Bacillus α	Bacillus β	Bacillus γ	Hefe	Pilz
0,9	Dauernd 0	Dauernd 0	2,4	0
12,9	kein	kein	16,7	2,2
15,8	Wachstum	Wachstum	15,9	11,1
4,6			16,7	12,7
3,4			16,1	17,9
3,1			11,3	14,8
2,1			6,4	14,4
1,6			8,3	12,0
1,4			6,1	6,1
1,3			3,6	11,7
0,4			4,7	6,9
0,8			?	7,0
0,9			5,0	5,0
0,9			2,4	3,5
0			1,9	2,1
0			0,7	2,9

Bacillus α, der anfangs in Flocken, später leicht trübend wuchs, zeigt bereits hier seine charakteristische CO_2-Bildung, die rasch ansteigt, um ebenso schnell abzusinken. Hefe liefert eine der bereits früher[1]) beschriebenen ganz ähnliche Reihe. Nicht weniger CO_2 bildet der Pilz, welcher schließlich die ganze Flüssigkeit mit gallertigen Flöckchen erfüllte. Kein einziger der, namentlich aus dem Ausgangsmateriale isolierten oder sporadisch auf kurze Zeit während der Verwesung aufgetretenen Spaltpilze wuchs auf natürlich saurem Rheum-Safte und ebensowenig auf sterilisierten Rheum-Blättern selbst. Die Bacillen β und γ verhielten sich ebenso; doch ist hierzu zu bemerken, daß dies nur für frische Blätter gilt. Als einmal solche verwendet wurden, welche im Spätherbst noch an der Staude erfroren waren, wuchs auch γ ohne weiteres und zwar mit sehr deutlicher und lang andauernder Kohlensäureentbindung.

Versuch mit U-Röhren, enthaltend je 30 g sterilisierter Blätter:

(Siehe Tabelle S. 587.)

Von den Einzelimpfungen hatte jedenfalls der Pilz die meiste CO_2 entwickelt. Aber das Bild, welches die Blätter schon nach einer Woche darboten, war von dem der Verwesung völlig abweichend. Die im gebogenen Teil des U-Rohres vom Sterilisieren

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IX. 1902. p. 577.

Tägliche CO_2-Produktion in ccm.

Bacillus α	Bacillus β	Bacillus γ	Hefe	Pilz	α + β + γ + Hefe + Pilz
0,2	Kein Wachstum	Kein Wachstum	10,3	3,6	8,1
0,8			12,5	11,8	15,5
4,1			14,3	9,3	17,6
9,3			15,5	16,3	17,1
9,2			9,9	14,0	15,8
5,2			8,6	14,7	14,4
4,4			12,9	13,8	12,8
2,9			7,4	13,6	13,9
5,5 [1])			9,1 [1])	14,2 [1])	15,7 [1])
2,9			6,0	10,4	13,3
3,0			6,9	8,0	14,9
2,3			5,6	10,2	14,1
2,4			6,7	10,9	15,9
2,1			5,1	9,8	17,3
2,1			5,2	8,7	14,9
1,6			8,3	8,7	14,6
1,4			6,1	7,3	14,2
1,3			3,4	6,5	15,0
0,7 [1])			4,3 [1])	5,8 [1])	13,4 [1])
1,9			5,5	8,2	16,7

u. s. w.

her angesammelte Flüssigkeit war völlig aufgezehrt, die Blätter selbst waren unter einer niedrigen Myceldecke geschrumpft aber nicht erweicht oder gar verflüssigt; Geruch hatte sich kein auffälliger entwickelt. Die Differenz gegen das mit sämtlichen Mikroorganismen geimpfte Urohe wie gegen die sonstigen Befunde war eine so auffällige, daß ein irgendwie erhebliches Wachstum des Pilzes ganz sicher nicht für die Verwesung in Betracht kommen kann.

Hefe und Bacillus α hatten das Aussehen der Blätter nicht wesentlich verändert, die Reaktion war bei ersterer schwach, bei letzterem intensiv sauer.

Im Gegensatz dazu hatte die Eintragung sämtlicher Organismen das gewohnte Bild hervorgerufen. Was zunächst die CO_2-Produktion betrifft, so möge ein Vergleich folgen, der sie für den Reinkulturversuch und einen solchen wiedergiebt, wo gleichzeitig damit 30 g Blätter mit Material von Rh. 6 (bei schon bestehender alkalischer Reaktion) geimpft waren.

CO_2-Produktion in ccm im wöchentlichen Durchschnitt:

	Geimpft mit α, β, γ, Hefe, Pilz	Geimpft mit Material Rh. 6
1. Woche	14,49	12,5
2. "	15,3	15,17
3. "	14,29	12,74
4. "	10,3	12,71
5. "	8,48	9,03
6. "	7,22 [2])	5,12

Auch die fortschreitenden Veränderungen der Blätter waren dieselben, wie bei der Impfung mit verwesendem Materiale,

1) War 48 Stunden lang nicht geöffnet.
2) Nur 4-tägiger Durchschnitt.

und der bakteriologische Befund entsprach im großen ganzen demjenigen, der nach den bisherigen Ergebnissen zu erwarten war.

Am 3. Tage nach der Impfung: Flüssigkeit trübe, gelbrot, sauer, ohne besonderen Geruch. Kulturell: 42000 Kolonieen von α, 60000 von Hefe, 400 von γ, 2000 Pilzmycelien.

Am 7. Tage: 120000 Hefen, 150000 Bacillus α, 380 Bacillus γ, 4000 Pilze.

Am 14. Tage sind die Blätter bereits in den gebogenen Teil des Rohres abgesunken, weich und schmierig. Die Flüssigkeit ist vermehrt, dicht trübe, von Gewebsfetzen erfüllt, sauer. Kulturell ergeben sich 650000 Hefen, 70000 Bacillus α, 15000 Bacillus γ, 1200 Pilze.

Am 20. Tage ergiebt die kaum noch saure, tabakartig riechende, dick trübe Flüssigkeit: 100000 Hefen, ebensoviel Bacillus α, 12000 Bacillus γ, 3700 Pilze.

Am 25. Tage ist die Flüssigkeit, die intensiv tabakartig riecht, fast neutral und liefert 42000 Bacillus α, 142000 Hefen, 120000 Bacillus γ, 2000 Pilze.

Nach 30 Tagen sind die Blätter zu einem kleinen unkenntlichen Haufen zusammengesunken, der in spurenweise alkalischer, dick trüber Flüssigkeit liegt. Der Geruch ist stark „tabakartig“ und vielleicht daneben leicht modrig. Eine Zählung ist wegen raschester Verflüssigung der Platten nicht mehr mit Sicherheit durchzuführen. Geschätzt werden: 12000 Hefen, 10000 Bacillus α, mindestens 200000 Bacillus γ, höchstens 1000 Pilze. Einige Kolonieen von β finden sich auf der letzten Verdünnungsplatte.

Nach 39 Tagen (Abbruch des Versuches) ist die Reaktion stark alkalisch, der Geruch tabakartig und dabei schwach modrig. Von den Blättern ist nur eine unkenntliche schmierige Masse übrig. Kulturell ist wegen rapider Verflüssigung nur das vollständige Ueberwiegen des Heubacillus festzustellen, bei starker Abnahme von α und Hefe, geringer Zunahme von β. Der Pilz ist jedenfalls nicht reichlich vorhanden.

Wenn hier etwas von dem gewohnten Befunde abweicht, so ist es das späte Auftreten des modrig riechenden Bacillus, der im Anfang trotz reichlicher Impfung überhaupt nicht zu finden war, sowie der häufige Befund des Pilzes. Sonst ist das allmähliche Ueberhandnehmen des Heubacillus nach vorausgegangener Hefe- und α-Vegetation ganz typisch.

Die Erscheinung, daß der Bacillus β bei schon stark sinkender CO_2-Bildung und auch da erst in geringer Menge aufgetreten ist, beweist, daß der in oft charakterisierter Weise verlaufende Verwesungsprozeß seiner Mitwirkung gar nicht bedarf. Es blieben somit nur 3 Mikroorganismen als wesentlich übrig, die in der Reihenfolge Hefe + Bacillus α — Bacillus γ ihre Wirkungen ausüben. Daß sie völlig ausreichen, zeigt der folgende Versuch, bei dem je 50 g sterilisierter Rheum-Blätter teils mit einer einzigen, teils mit einer Kombination mehrerer Reinkulturen geimpft wurden.

Als Impfmaterial wurden je 3 Tropfen gutgewachsener Kultur in neutralisiertem Rheum-Saft verwendet. Die erste CO_2-Bestimmung erfolgte 36 Stunden nach der Impfung, dann in 24-stündigen Intervallen, die möglichst genau eingehalten wurden.

Tägliche CO_2-Produktion in ccm.

Tag	Bac. α	Bac. γ	Bac. α + γ	Hefe	Bac. α + Hefe	Bac. γ + Hefe	Bac. α + γ + Hefe
2.	14,4	—	11,2	14,9	12,5	8,0	17,4
3.	18,2	—	14,7	17,2	19,6	10,2	18,1
4.	12,9	—	14,6	16,8	19,0	10,1	19,9
5.	13,5	—	11,3	15,7	14,9	11,4	21,9
6.	11,3	—	11,0	15,9	15,3	15,5	16,6 (?)
7.	9,2	—	8,3	15,2	15,1	14,9	22,6
8.	10,3	—	9,4	15,3	16,3	14,8	18,2
9.	6,6	—	7,5	12,8	11,9	10,5	17,6
10.	6,1	—	6,5	11,9	10,0	11,3	18,0
11.	5,7	—	5,9	11,5	10,3	12,8	18,2
12.	4,8	—	4,6	10,3	13,0	12,4	17,7
13.	4,0	—	5,0	10,0	12,7	10,0	18,2
14.	3,6	—	5,5	7,2	11,9	9,7	17,6
15.	3,8	—	4,0	5,3	10,4	11,0	17,9
16.	2,7	—	3,4	5,1	11,1	8,9	16,9
17.	2,5	—	3,2	5,4	11,4	10,0	19,9
18.	2,7	—	3,8	4,3	11,0	11,1	17,5
19.	2,7	—	3,6	5,7	9,1	12,8	16,0
20.	2,2	—	3,4	5,6	9,2	11,2	17,8
21.	2,9	—	2,6	5,8	9,4	12,7	18,2
22.	2,1	—	2,5	4,2	7,9	12,3	18,2
23.	1,3	—	2,3	5,8	8,9	13,7	17,4
24.	1,4	—	1,9	5,0	10,7	14,3	16,5
25.	1,1	—	1,1	3,9	10,0	11,0	16,2
26.	1,0	—	0,8	4,8	8,8	13,1	14,8
27.	—[1])	—	—[1])	4,8	8,5	12,9	14,9
28.	—	—	—	3,7	9,8	13,5	15,0
29.	3,2	—	2,1	2,2	5,3	14,2	15,4
30.	—[1])	—	—[1])	1,9	6,9	14,8	12,2
31.	—	—	—	2,5	6,2	15,1	10,8
32.	0,7	—	1,2	1,8	4,1	8,2	10,9
33.	—	—	—	1,1	4,6	7,4	11,3
34.	—	—	—	1,6	3,8	7,2	9,5

Am 3. Tage war die Flüssigkeit des mit $\alpha + \gamma +$ Hefe geimpften Cylinders dicht trüb, sauer. Sie ergab 740000 Hefe, 117300 Bacillus α, 1200 Bacillus γ.

Am 7. Tage ergab sie 580000 Hefe, 240000 Bacillus α, 760 Bacillus γ.

Am 11. Tage wurden alle Cylinder untersucht. In der mit α beimpften Probe war keine wesentliche Veränderung der Blätter wahrzunehmen. Die intensiv saure Flüssigkeit lieferte α in Reinkultur. Die Hefe, ebenfalls in Reinkultur vorhanden, hatte ebensowenig eine Veränderung hervorgebracht. Dasselbe war der Fall bei der Kombination $\alpha + \gamma$, wo in einer Oese der stark sauren Flüssig-

1) 2 Tage lang nicht geöffnet.

keit neben 1 Million α nur 2 Kolonieen von γ sich fanden. α + Hefe lieferte 720000 Hefe und ungefähr ebensoviel α, in γ + Hefe war die Hefe weitaus in Ueberzahl. In $\alpha + \gamma$ + Hefe waren die Blätter bereits unter Vermehrung der trüben, noch sauren Flüssigkeit stark zusammengesunken, der Geruch deutlich „tabakartig". Kulturell ergaben die Platten 690000 Kolonieen von Hefe, 620000 von α, 33200 von γ.

Am 15. Tage ist der Geruch der anscheinend nicht veränderten Blätter der Probe α leicht säuerlich. Die trübe, intensiv saure Flüssigkeit giebt über 1 Million Kolonieen. Ganz entsprechend ist der Befund in $\alpha + \gamma$, wo nur wenige Kolonieen von γ noch aufgehen. In α + Hefe enthält die trübe, saure Flüssigkeit, welche die weder an Aussehen noch Geruch wesentlich veränderten Blätter umspült, 176000 Hefen und 800000 α. In dem mit γ + Hefe geimpften Cylinder sind die Blätter deutlich rarefiziert bei Vermehrung der trüben, sauren Flüssigkeit; dabei ist ein sicher „tabakartiger" Geruch vorhanden. Kulturell ergeben sich 730000 Hefen, 17430 γ. Der Cylinder $\alpha + \gamma$ + Hefe enthält eine ganz zusammengesunkene, fast unkenntliche, oben sehr dunkle, unten, wo die trübe, von kleinen Gewebsfetzen erfüllte, sehr schwach saure Flüssigkeit steht, dunkelgrüne Masse, von stark „tabakartigem" Geruche. Die zur Untersuchung hergestellten Platten sind nach 2 Tagen fast ganz flüssig. Nach den letzten Verdünnungen läßt sich schätzen: 450000 Hefe, 29000 α, 634000 γ.

Am 20. Tage ist die Reaktion der Probe $\alpha + \gamma$ + Hefe gerade noch sauer. Kulturell läßt sich wegen rapider Verflüssigung nur das Uebergewicht erkennen, welches der Bacillus γ bereits erlangt haben muß.

Nach 24 Tagen wurden die Proben neuerdings untersucht. Der Geruch der beiden Cylinder γ + Hefe und $\alpha + \gamma$ + Hefe ist rein und stark „tabakartig", in beiden überwiegt γ weitaus.

(Schluß folgt.)

Ueber die Spezialisierung des Getreideschwarzrostes in Schweden und in anderen Ländern [1].

Von **Jakob Eriksson**,

(Experimentalfältet, Albano [Stockholm])

In einem kürzeren Aufsatze vom Jahre 1897 (Eriksson, II, 200) habe ich eine Zusammenstellung sämtlicher bis dahin gemachten Erfahrungen über die Formenbildung des Getreideschwarz-

1) Die hier citierte Litteratur ist die folgende:

Carleton, M. A. — I. Cereal rust of the United States. (U. S. Department of Agric., Divis. of Veg. Phys. and Path., Bull. 16. Washington 1899.)

Eriksson, J. — I. Neue Untersuchungen über die Spezialisierung, Verbreitung und Herkunft des Schwarzrostes. (Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XXIX. 1896. Heft 4.)

rostes gegeben. Von dieser Pilzart hatte man folgende Formen unterscheiden können:

A. Fixiert:

1) f. sp. **Secalis** auf Secale cereale, Hordeum vulgare, H. jubatum, Triticum repens, T. caninum, T. desertorum und Elymus arenarius;

2) f. sp. **Avenae** auf Avena sativa, A. elatior, A. sterilis, Dactylis glomerata, Alopecurus pratensis, Milium effusum, Lamarckia aurea und Trisetum distichophyllum;

3) f. sp. **Airae** auf Aira caespitosa;

4) f. sp. **Agrostis** auf Agrostis vulgaris und A. stolonifera;

5) f. sp. **Poae** auf Poa compressa und P. caesia.

B. Nicht scharf fixiert:

6) f. sp. **Tritici** auf Triticum vulgare (Hordeum vulgare, Secale cereale und Avena sativa).

In den Jahren 1897—1900 sind die Untersuchungen über dasselbe Thema fortgesetzt worden, wodurch neue Beiträge zur Lösung der Spezialisierungsfrage hinzugekommen sind. Ich will im Folgenden eine Uebersicht der neugewonnenen Erfahrungen geben, um dieselben dann mit den früher gemachten zusammenzustellen, und will schließlich mit den in Schweden vorhandenen Spezialisierungsphänomenen die in anderen Ländern beobachteten vergleichen.

Zuerst gebe ich eine Uebersicht der ausgeführten neuen Infektionsversuche mit dem Schwarzrostpilze in seinem Teleutosporenstadium (Tabelle 1, siehe S. 592 und 593).

Läßt man diejenigen Versuche unberücksichtigt, wo nur Spermogonien, keine Aecidien, entstanden, so findet man nach der Tabelle die Zahl der Grasarten, welche echten Schwarzrost (Puccinia graminis) tragen und also die Berberitze anstecken können, von 27 auf 52 gestiegen. Diese Grasarten sind die folgenden:

(Siehe Tabelle S. 594.)

Eriksson, J., II. Weitere Beobachtungen über die Spezialisierung des Getreideschwarzrostes. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VII. 1897. Heft 3.)

—, III. Neue Beobachtungen über die Natur und das Vorkommen des Kronenrostes. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde. Abt. II. Bd. III. 1897.)

—, IV. Ueber die Dauer der Keimkraft in den Wintersporen gewisser Rostpilze. (Ib. Bd. IV. 1898.)

—, V. Nouvelles études sur la rouille brune des céréales. (Ann. d. Sc. Nat. Bot. Ser. 8. T. IX. Paris 1899.)

—, VI. Sur l'origine et la propagation de la rouille des céréales par la semence. (Ib. T. XIV et XV. Paris 1901 et 1902.)

— VII. Ist der Timotheengrasrost eine selbständige Rostart oder nicht? (Öfvers. af Kgl. Vet.-Akad. Förh. Stockholm. 1902. No. 5.)

— u. Henning, E. — I. Die Hauptresultate einer neuen Untersuchung über die Getreideroste. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IV. 1894. Heft 2.)

—, II. Die Getreideroste, ihre Geschichte und Natur, sowie Maßregeln gegen dieselben. Stockholm 1896.

Müller, F. — I. Beiträge zur Kenntnis der Grasroste. (Beih. z. Botan. Centralbl. Bd. X. 1901.)

Tabelle 1. Infektionsversuche mit Puccinia graminis auf Berberis vulgaris in den Jahren 1897—1900.

Infektions- No.	Jahr	Tag	Infektionsmaterial: Herkunft	Keimfähigkeit: Grad	Keimfähigkeit: nach Stunden	Zahl der Infektionsstellen	Resultat: + / —	Zahl der Rostflecken mit Spermogonien	Zahl der Rostflecken mit Aecidien	Inkubationsdauer in Tagen der Spermogonien	Inkubationsdauer in Tagen der Aecidien	Anmerkungen
1	1897	11./5.	Poa compressa	4	13	64	+	64	64	9—20	25—32	
2	„	„	„ caesia	„	„	48	+	48	48	„	„	(Neue Wirtspflanze)[1]
3	„	„	Koeleria setacea	3	„	49	+	36	2	„	20—25	Neue Wirtspflanze
4	„	„	Poa compressa	4	„	46	+	35	34	9—25	20—32	
5	„	12./5.	Avena sativa	„	19	„	+	46	46	8—25	19—31	Inf.-Mater. a. d. J. 1896
6	„	„	„ „	1	67	30	(+)	3	.	25—31	.	„ „ 1895
7	„	„	„ „	0	„	27	—	.	.	.	.	„ „ 1894
8	„	„	Aira caespitosa	3	22	28	+	27	18	8—25	25—31	
9	„	15./5.	„ grandis	4	23	47	+	47	47	9—17	23—28	Neue Wirtspflanze
10	„	„	Hordeum jubatum	„	„	45	+	45	45	9	„	(Neue Wirtspflanze)[1]
11	„	„	Trisetum distichophyllum	„	22	36	+	36	36	9—23	„	Schwache Ausschläge (Neue Wirtspflanze)[1]
12	„	„	Elymus sibiricus	„	„	41	+	41	41	„	17—28	Neue Wirtspflanze
13	„	„	„ glaucifolius	„	„	33	+	33	33	9—17	17—23	
14	„	„	Milium effusum	„	„	42	+	42	42	9	17—28	
15	„	18./5.	Triticum vulgare	„	8	56	+	49	24	14—20	20—25	Inf.-Mater. a. d. J. 1896
16	„	„	„ „	0	49	30	—	.	.	.	.	„ „ 1895
17	„	„	„ „	1	„	30	+	19	8	13—19	19—41	„ „ 1894
18	„	19./5.	Secale cereale	4	23	36	(+)	22	.	„	.	„ „ 1896
19	„	„	„ „	0	„	40	—	.	.	.	.	„ „ 1894
20	„	„	„ „	„	„	38	—	.	.	.	.	„ „ 1893
21	1898	18./5.	Triticum vulgare (1)[2]	4	14	50	+	50	50	17	33	
22	„	„	„ „ (2)[2]	„	„	40	+	40	40	„	„	
23	„	20./5.	„ „	0	70	30	—	.	.	.	.	Inf.-Mater. a. Australien
24	„	21./5.	Aira bottnica	4	19	52	+	51	29	14—30	30—45	Neue Wirtspflanze
25	„	„	Koeleria setacea	„	7	47	+	47	33	14	30	
26	„	28./5.	Poa aspera	„	21	54	+	46	„	7—23	23—48	Neue Wirtspflanze
27	„	„	„ alpina	„	20	45	+	42	42	„	„	„ „
28	„	7./6.	Elymus arenarius	„	8	34	+	34	34	13	38	
29	„	„	Hordeum jubatum	„	„	42	+	31	30	„	„	
30	„	„	Triticum caninum	„	„	41	+	18	18	„	„	
31	„	13./6.	Poa alpina	„	24	33	+	7	4	.	32	
32	1899	26./5.	Triticum repens	4	.	49	+	49	49	13—21	21—32	
33	„	27./5.	Secale cereale	„	25	45	+	40	40	„	32	
34	„	„	Triticum vulgare (1)	„	24	30	+	29	17	„	21—32	
35	„	28./5.	Avena sativa	„	„	41	+	41	24	12—20	20—31	
36	„	„	Hordeum vulgare	„	„	36	+	27	11	„	31	
37	„	„	Aira caespitosa	„	„	40	+	37	22	„	„	
38	1900	26./5.	Vulpia bromoides	4	23	47	+	46	46	„	20—42	Neue Wirtspflanze
39	„	„	Bromus madritensis	„	„	46	+	„	25	12	„	„ „
40	„	„	„ arvensis	„	22	24	+	24	16	12—20	„	„ „
41	„	„	„ adoensis	„	21	35	+	31	13	„	42	„ „

1) Durch die Parenthese wird bezeichnet, daß, wenn auch die Form infolge ausgeführter Uredo-Infektionen als eine echte Schwarzrostform betrachtet wurde, doch keine Puccinia-Infektionen früher ausgeführt worden sind.

2) (1) = einjährig; (2) = zweijährig.

Infektions- No.	Infektions- Jahr	Infektions- Tag	Infektionsmaterial Herkunft	Infektionsmaterial Keimfähigkeit Grad	Infektionsmaterial Keimfähigkeit nach Stunden	Zahl der Infektionsstellen	Resultat + —	Resultat Zahl der Rostflecken mit Spermogonien	Resultat Zahl der Rostflecken mit Aecidien	Resultat Inkubationsdauer in Tagen der Spermogonien	Resultat Inkubationsdauer in Tagen der Aecidien	Anmerkungen
42	1900	26./5.	Festuca Myurus	4	20	35	+	31	20	12	42	Neue Wirtspflanze
43	"	"	Avena barbata	3	"	20	+	19	2	12—20	"	" "
44	"	28./5.	Phalaris canariensis	4	"	41	+	29	10	10—18	18—38	" "
45	"	"	Phleum asperum	"	"	30	+	"	16	"	"	" "
46	"	"	Briza maxima	"	"	36	+	33	28	"	"	" "
47	"	"	Phalaris canariensis	"	"	34	+	26	13	"	"	
48	"	30./5.	Triticum vulgare	"	45	43	+	40	10	7—15	15—36	Inf.-Mater. a. Ungarn
49	"	"	Hordeum comosum	3	20	"	+	23	4	"	36	Neue Wirtspflanze
50	"	31./5.	Festuca tenuiflora	2	89	30	(+)	1	.	35	.	
51	"	"	Bromus intermedius	"	46	33	(+)	2	.	"	.	
52	"	2./6.	" brachystachys	"	24	29	+	19	10	14—34	35	Neue Wirtspflanze
53	"	"	" macrostachys	"	"	24	(+)	8	.	"	.	
54	"	"	" secalinus	"	"	29	+	9	1	"	34	
55	"	"	Secale dalmaticum	"	23	29	+	12	3	"	34	Neue Wirtspflanze
56	"	4./6.	Avena chinensis	"	24	27	+	11	2	12	32	" "
57	"	"	Agrostis stolonifera	"	"	29	+	20	7	12—32	"	
58	"	"	Avena purpuracea	"	"	35	+	14	1	"	"	Neue Wirtspflanze
59	"	"	Secale montanum	3	"	25	—	.	.	.	.	
60	"	6./6.	Avena sativa	"	"	28	+	10	5	10—30	30	
61	"	"	" "	"	23	36	(+)	2	.	30	.	
62	"	"	Elymus arenarius	4	24	39	(+)	5	.	10—30	.	
63	"	"	Lamarckia aurea	"	21	36	+	25	19	"	30	
64	"	15./6.	Briza maxima	"	22	46	+	23	3	11—21	21	
65	"	"	Phleum asperum	"	"	43	+	28	3	11	"	
66	"	"	Vulpia bromoides	"	"	33	(+)	1	.	"	.	
67	"	"	Festuca tenuiflora	"	"	50	+	3	1	21	21	Neue Wirtspflanze
68	"	"	" Myurus	"	"	48	(+)	7	.	"	.	
69	"	"	Phalaris canariensis	"	23	40	(+)	12	.	11—21	.	
70	"	17./6.	Triticum ventricosum	"	24	48	(+)	16	.	9—19	.	
71	"	"	" "	"	"	20	+	8	2	.	19	Neue Wirtspflanze

Von den 27 Grasarten, deren Schwarzrostformen mit Rücksicht auf die Fähigkeit, die Berberitze anzustecken, jetzt zum ersten Male geprüft wurden, stammten 3, nämlich Aira grandis, Elymus sibiricus und Koeleria setacea, aus dem Versuchsgarten des Experimentalfeldes. In dem Bergianischen Garten bei Stockholm waren folgende 7 eingesammelt: Aira bottnica, Hordeum comosum, H. jubatum, Poa alpina, P. aspera, P. caesia und Trisetum distichophyllum; — und in dem Botanischen Garten zu Upsala folgende 12: Briza maxima, Bromus adoensis, B. arvensis, B. brachystachys, B. intermedius, B. madritensis, Festuca Myurus, F. tenuiflora, Phalaris canariensis, Phleum asperum, Triticum ventricosum und Vulpia bromoides. Die

	Zahl der Infektions- versuche mit positivem Resultate		Zahl der fektions- versuche mit positivem Resultate
Agrostis stolonifera	3	Hordeum jubatum	2
„ vulgaris	2	„ vulgare	7
Aira bottnica	1	Koeleria setacea	2
„ caespitosa	6	Lamarckia aurea	3
„ flexuosa	1	Milium effusum	4
„ grandis	1	Panicum miliaceum	1
Alopecurus nigricans	1	Phalaris canariensis	2
„ pratensis	1	Phleum asperum	2
Avena barbata	1	„ Boehmeri	1
„ chinensis	1	„ Michelii	1
„ elatior	1	Poa alpina	2
„ purpuracea	1	„ aspera	1
„ sativa	7	„ caesia	1
Briza maxima	2	„ Chaixii	1
Bromus adoensis	1	„ compressa	4
„ arvensis	1	„ pratensis	1
„ brachystachys	1	Secale cereale	6
„ madritensis	1	„ dalmaticum	1
„ secalinus	3	Trisetum distichophyllum	1
Dactylis glomerata	8	Triticum caninum	4
Elymus arenarius	2	„ desertorum	2
„ glaucifolius	2	„ repens	9
„ sibiricus	1	„ unicum	1
Festuca Myurus	1	„ ventricosum	1
„ tenuiflora	1	„ vulgare	16
Hordeum comosum	1	Vulpia bromoides	1

übrigen 5 Grasarten: Avena barbata, A. chinensis, A. purpuracea, Secale dalmaticum und S. montanum, stammten aus dem botanischen Garten zu Lund und waren durch die Freundlichkeit des Herrn Professors B. Jönsson zu meiner Verfügung gestellt. Sämtliches Material war im Spätherbste des dem Versuchsjahre vorausgehenden Jahres eingesammelt. Während des Winters waren die Blatt- und Halmteile in Ueberwinterungskästen auf dem Experimentalfelde im Freien aufbewahrt.

Unter den in die Tabelle aufgenommenen Versuchsnummern findet man gewisse, die eigentlich die Lösung anderer Fragen als die der Spezialisierungsfrage zum Zweck hatten. Zu diesen gehören die Nummern 5—7, 15—17 und 18—20, in denen Infektionsmaterial verschiedenen Alters benutzt wurde, um somit die Dauer der Keimkraft der Sporen zu prüfen. Ueber die Resultate dieser Versuche ist an anderem Orte (Eriksson, IV. 383) berichtet.

Die Versuchsnummern 21—22 wurden mit Material ausgeführt, das teils von Winter- und teils von Sommerweizen stammte. Sie hatten den Zweck, zu zeigen, ob zwischen diesen beiden Formen des Schwarzrostes eine spezifische Verschiedenheit vorhanden sei oder nicht. Auch über die bei diesen Versuchen gewonnenen Resultate ist an anderem Orte (Eriksson, VI. 35) berichtet.

Endlich merke man die Versuchsnummern 23 und 48, wo das Infektionsmaterial aus Australien (W. Farrer, Lambrigg, Quean-

byan, New South Wales) und aus Ungarn (G. Linhart, Magyár-Ovár) stammte. Der spezielle Zweck dieser beiden Versuche war der, zu prüfen, inwiefern die unter ganz anderen klimatischen Verhältnissen ausgebildeten Formen mit den in Schweden vorkommenden völlig identisch seien. Der eine dieser Versuche, der mit australischem Material ausgeführte, konnte jedoch aus dem Grunde nicht verfolgt werden, weil die Sporen nicht keimten. Von den Resultaten der mit ungarischem Material ausgeführten wird im folgenden gesprochen werden.

Die Mehrzahl der in der Tabelle 1 aufgeführten Versuche hatte das Ziel, zu erforschen, inwiefern gewisse früher nicht untersuchte Schwarzrostformen die Fähigkeit besäßen, auf die Berberitze überzusiedeln, d. h. ob sie dem echten Schwarzroste (Puccinia graminis) zugehörten, oder ob sie jener Fähigkeit entbehrten und vielleicht mit dem Timotheegrasroste (Puccinia Phlei pratensis) identisch seien. In dem ersten Falle wäre auch jede Form an ihren richtigen Platz innerhalb der Schwarzrostart einzureihen.

Um dieses letzte Ziel zu erreichen, habe ich auch mit einer großen Zahl der erzogenen Aecidienformen fortlaufende Infektionsversuche angeordnet, die in der untenstehenden Tabelle 2 zusammengestellt worden sind. (Siehe Tabelle S. 596 und 597.)

Was in erster Linie bei den gewonnenen Versuchsergebnissen auffällt, ist der Umstand, dass so viele der neuuntersuchten Pilzformen — die auf Koeleria setacea, Bromus madritensis, B. brachystachys, B. arvensis, Festuca Myurus, F. tenuiflora, Vulpia bromoides, Phalaris canariensis, Phleum asperum und Briza maxima vorkommenden — sich mit dem Haferschwarzroste, f. sp. Avenae, identisch zeigten.

In mehreren früheren Arbeiten (Eriksson, I, 512; III, 306) habe ich hervorgehoben, daß der Haferschwarzrost eine größere Vitalität zeigt als die Schwarzrostformen der übrigen Getreidearten. Die Ueberlegenheit zeigt sich in der höheren Keimfähigkeit und Keimungsenergie der einzelnen Sporenformen, in den zahlreicheren und kräftigeren Ausschlägen der ausgeführten Infektionsversuche und in den verderblicheren Wirkungen auf die Getreideernte. Für die etwaige Ueberlegenheit geben die hier oben geschilderten Versuchsergebnisse eine neue Stütze, da durch dieselben die Zahl der Wirtspflanzenarten des Haferschwarzrostes von 8 auf 18 gestiegen ist.

Eine der neuen Wirtspflanzenarten, Koeleria setacea, wuchs im Versuchsgarten des Experimentalfeldes. In der unmittelbaren Nähe des rostigen Beetes fand sich freilich rostiger Hafer, aber dort waren auch rostige Versuchsnummern von Roggen, Gerste, Weizen und Quecke. Die übrigen neuen Wirtspflanzenarten, 9 an der Zahl, waren alle auf einem neuen Versuchsgebiete des Botanischen Gartens zu Upsala gleichzeitig eingesammelt worden. Hier kam wohl rostiger Hafer in mehreren Versuchsnummern vor, zugleich aber zahlreiche Nummern von Roggen, Gerste und Weizen, alle mehr oder weniger rostig. Daß an beiden Lokalitäten der Haferschwarzrost fast der einzige war, der auf die neukultivierten Gräser überging, kann nicht gut anders erklärt werden, als durch die An-

Tabelle 2. Infektionsversuche mit Puccinia graminis

Puccinia				Aecidium						
Infektions-			Herkunft des Infektionsmateriales	Infektion ausgeführt auf	Zahl der Aecidienflecken	Infektions-			Keimfähigkeit des Infekt.-mater.	
Serie	Jahr	Tag				Nr.	Jahr	Tag	Grad	nach Std.
I (Tab. 1; Nr. 2)	1897	11./5.	**Poa caesia**	Berberis vulgaris	46	1	1897	19./6.	2	21
						2	„	„	„	„
II (1; 12)	„	15./5.	**Elymus sibiricus**	„ „	41	3	„	8./7.	1	46
III (1; 21	1898	18./5.	**Triticum vulgare** (1)	„ „	50	4	1898	1./7.	„	14
						5	„	„	„	„
IV (1; 22)	„	„	„ „ (2)	„ „	40	6	„	3./7.	„	„
						7	„	„	„	„
V (1; 25)	„	21./5.	**Koeleria setacea**	„ „	33	8	„	4./7.	2	„
						9	„	„	„	„
						10	„	„	„	„
						11	„	„	„	„
						12	„	„	„	„
VI (1;24)	„	„	**Aira bottnica**	„ „	29	13	„	„	„	15
VII (1; 39)	1900	26./5.	**Bromus madritensis**	„ „	25	14	1900	„	3	47
						15	„	„	„	„
						16	„	„	„	„
						17	„	„	„	„
						18	„	„	„	„
VIII (1; 52)	„	2./6.	**Bromus brachystachys**	„ „	10	19	„	„	„	46
						20	„	„	„	„
						21	„	„	„	„
						22	„	„	„	„
						23	„	„	„	„
IX (1; 42)	„	26./5.	**Festuca Myurus**	„ „	20	24	„	10./7.	4	22
						25	„	„	„	„
						26	„	„	„	„
						27	„	„	„	„
X (1; 38)	„	„	**Vulpia bromoides**	„ „	46	28	„	„	3	23
						29	„	„	„	„
						30	„	„	„	„
						31	„	„	„	„
XI (1; 40	„	„	**Bromus arvensis**	„ „	16	32	„	„	2	29
						33	„	„	„	„
						34	„	„	„	„
XII (1; 44)	„	28./5.	**Phalaris canariensis**	„ „	10	35	„	31./7.	3	28
						36	„	„	„	„
						37	„	„	„	„
						38	„	„	„	„
XIII (1; 45)	„	„	**Phleum asperum**	„ „	16	39	„	„	„	26
						40	„	„	„	„
						41	„	„	„	„
						42	„	„	„	„
XIV (1; 46)	„	„	**Briza maxima**	„ „	23	43	„	1./8.	„	„
						44	„	„	„	„
						45	„	„	„	„
						46	„	„	„	„
XV (1; 71)	„	17./6.	**Triticum ventricosum**	„ „	2	47	„	2./8.	2	23
						48	„	„	„	„
XVI (1; 67)	„	15./6.	**Festuca tenuiflora**	„ „	1	49	„	„	3	22
						50	„	„	„	„
						51	„	„	„	„
						52				

in fortlaufenden Generationen in den Jahren 1897, 1898 und 1900.

Uredo

Infizierte Pflanzen: Art	Anzahl	Zahl der Infektionsstell.	+ / −	Resultat: Zahl der Rostflecken nach Tagen: 8	10	11	12	14	15	17	18	19	20	21	25	26	27	31	32	33	38	49	61	95
Poa pratensis	4	30	+¹)	.	.	.	.	.	.	9	.	.	.	.	15	.	.	.	.	.	15			
„ compressa	3	28	−²)																					
Secale cereale	„	26	+	.	.	.	.	.	.	.	.	6												
Triticum vulgare (2)	„	23	+	.	.	.	.	6	.	.	.	.	.	10	.	.	.	.	.	10				
„ „ (1)	„	17	+	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	2				
„ „ (1)	„	21	+	.	.	.	1	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	2						
„ „ (2)	„	25	−																					
Secale cereale	2	18	−																					
Triticum vulgare	3	29	−																					
Avena sativa	„	24	+	.	.	22	.	.	.	.	22													
Koeleria setacea	„	31	−³)																					
Poa pratensis	„	25	−																					
Aira caespitosa	„	41	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	0	3	9
Triticum vulgare	„	22	−																					
Avena sativa	„	18	+	.	.	.	.	8	.	.	.	.	.	.	.	9								
Secale cereale	2	17	+	.	.	.	.	1	.	.	.	.	.	.	.	1								
Hordeum vulgare	„	14	−																					
Bromus mollis	3	23	+	.	.	.	.	0	.	.	.	.	.	.	.	3								
Triticum vulgare	„	19	−																					
Avena sativa	„	19	+	.	.	.	.	.	11	.	.	.	.	.	.	.	13							
Secale cereale	„	17	−																					
Hordeum vulgare	2	14	−																					
Bromus arvensis	„	17	−⁴)																					
Triticum vulgare	3	26	−																					
Avena sativa	„	29	+	13	.	.	.	.	.	.	.	.	29											
Hordeum vulgare	„	21	−																					
Secale cereale	2	18	+⁵)	.	.	.	.	.	.	.	.	.	1											
Triticum vulgare	3	20	−																					
Avena sativa	„	19	+	5	.	.	.	.	.	.	.	.	16											
Secale cereale	„	17	−																					
Hordeum vulgare	„	22	−																					
Triticum vulgare	2	14	−																					
Avena sativa	„	10	+	.	9	.	.	.	.	.	.	.	10											
Bromus arvensis	„	15	−⁶)																					
Secale cereale	3	25	+	.	1	.	.	.	.	.	.	.	1											
Triticum vulgare	2	18	−																					
Avena sativa	3	26	+	.	15	.	.	.	.	.	.	.	24											
Hordeum vulgare	„	28	−																					
Secale cereale	2	23	−																					
Triticum vulgare	3	25	−																					
Avena sativa	„	23	+	.	13	.	.	20																
Hordeum vulgare	„	17	−																					
Triticum vulgare	„	19	−																					
Avena sativa	„	18	+	.	.	.	.	.	.	.	.	18												
Hordeum vulgare	„	18	−																					
Secale cereale	„	21	+	.	.	.	.	.	.	.	.	1												
Triticum vulgare	„	19	−																					
Avena sativa	„	14	−																					
Secale cereale	2	17	−																					
Avena sativa	3	20	+	.	.	.	.	.	.	.	20													
Hordeum vulgare	4	24	−																					
Triticum vulgare	3	22	−																					

Bemerkungen: 1) Ausschläge am kräftigsten in der Rispe, dann an den untersten Blättern und an den Halmen unmittelbar oberhalb der Blätter; sämtliche Ausschläge ziemlich schwach. Die nicht infizierte Rispe rein. — 2) An keiner Stelle Spuren von Ausschlägen, obgleich die Pflanzen kräftig waren; Blätter und Halme meistenteils grün noch nach 38 Tagen. — 3) Nach 18 Tagen gar keine Pusteln, obgleich die meisten Blätter frisch grün waren. Sogar nach 95 Tagen mehrere der infizierten Blätter frisch grün, die Infektionsstellen leicht sichtbar, aber ohne Spuren von Pusteln. Nur einzelne tote Fleckchen, wo die Infektion stattgefunden hatte. — 4) Keine Spur von Rost, obgleich die Blätter offenbar der Infektion sehr dienlich waren. Kein Mehltau. Auch die Rispen rein. — 5) Da zwischen zwei Infektionsstellen, wenigstens 20 mm von jeder Stelle entfernt, Pusteln auftraten, kann man eine unwillkürliche fremde Infektion vermuten. — 6) Keine Spur von Pusteln. Kein Mehltau. — 6) Ausschläge besonders kräftig.

nahme, daß die infizierende Fähigkeit dieser Form größer ist als die der übrigen Formen.

Da man voraussetzen muß, daß die oben genannten Grasarten vorzugsweise durch nebenan wachsenden rostigen Hafer angesteckt worden waren, so ist wohl auch der Schwarzrost auf denselben nur ein zufälliger Gast gewesen. Eine tiefere Anpassung an die neuen Wirtspflanzenarten kann der Pilz in der kurzen Zeit, in der derselbe hier gehaust hat, nicht erreicht haben, und darf es uns dann auch nicht überraschen, daß man bei den fortlaufenden Infektionen reichlichere und kräftigere Ausschläge an dem Hafer findet, als an den Pflanzen derjenigen Art, die das Infektionsmaterial produziert hat, ja daß solche Ausschläge sogar zuweilen nur auf dem Hafer hervorbrechen. Man konnte übrigens annehmen, daß der Pilz durch seinen Uebergang auf die neuen Grasarten einen Teil seiner ihm innewohnenden Vitalität verloren hat, so daß er in einer folgenden Generation nur diejenige Pflanzenart (Hafer) anstecken kann, an der er sich durch eine Reihe von Generationen zu dem, was er jetzt ist, ausgebildet hat.

Die Ursache der schwachen oder sogar negativen Erfolge an der neuen Grasart selbst oder an einer damit nahe verwandten Art kann nicht in einem zufällig schwachen und unpassenden Stande der infizierten Pflanzen gesucht werden. Vielmehr muß man diese Pflanzen, nach dem Aeußeren zu urteilen (vergl. z. B. Tabelle 2, No. 11, 18, 23, 34), für sehr infektionsfähig halten.

In gewissen Fällen traten auch Pusteln auf Roggen hervor, und zwar mit der Form von Bromus madritensis in 1 Falle unter 17, mit der Form von Festuca Myurus in 1 Falle unter 18, mit der Form von Phalaris canariensis in 1 Falle unter 25 und mit der Form von Briza maxima in 1 Falle unter 21. Diese Fälle lassen sich kaum durch eine unabsichtliche Infektion von außen her, weder während, noch unmittelbar nach der Infektion, erklären, weil die Pusteln im allgemeinen genau an den infizierten Stellen auftraten. Die richtige Erklärung ist vielleicht die, daß außer dem Haferschwarzroste auch der Roggenschwarzrost, wenn auch in geringerem Grade, an dem ursprünglichen Standorte in Upsala die Grasarten angesteckt hat, infolgedessen diese im Spätherbste, wo das rostige Strohmaterial eingesammelt wurde, gleichzeitig beide Rostformen trugen.

Spezielle Aufmerksamkeit verdient die Versuchsserie I mit der Form von Poa caesia. Positive Ergebnisse traten bei der fortgesetzten Kultur auf P. pratensis hervor, in 15 Fällen unter 30, aber durchaus negative auf P. compressa, in 28 Fällen. Wenn man sich erinnert, daß f. sp. Poae ursprünglich die auf P. compressa auftretende Form war (Eriksson und Henning, I, 71), und daß die später untersuchte Form auf P. pratensis nicht ohne Bedenken damit identifiziert wurde (Eriksson, II, 199) — die Möglichkeit, daß P. pratensis zwei verschiedene Schwarzrostformen trug, noch immer nicht ausgeschlossen — und schließlich, daß Infektionsversuche, die mit Uredosporen aus P. caesia auf P. pratensis ausgeführt wurden, in 14 Fällen unter 24 positiv ausfielen, so wird man einsehen, wie schwer und unsicher es ist, nach den jetzt vorliegenden Ergebnissen zu entscheiden, wie es sich mit der Spezialisierung des Schwarzrostes bei den Poa-Arten in der That verhält.

Ganz unbedingt ist aber durch die neuausgeführten Versuche die Form auf Elymus sibiricus unter f. sp. Secalis, und die auf Aira bottnica unter f. sp. Airae eingeordnet worden.

Recht überraschend sind die Resultate der mit dem ungarischen Weizenschwarzroste (Ser. XVII) ausgeführten Versuche. Die Ausschläge waren hier reichlicher auf Hafer, in 8 Fällen unter 11, als auf Weizen selbst, in 1 Falle unter 18. Vielleicht wird man darin eine Andeutung davon sehen, daß der Weizenschwarzrost in Ungarn auf andere Weise als in Schweden spezialisiert sein könnte.

Außer den jetzt beschriebenen Infektionsversuchen mit verschiedenen Schwarzrostformen in ihren Puccinia- und Aecidiumstadien sind auch in den Jahren 1897—1900 ähnliche Versuche mit gewissen Schwarzrostformen in ihrem Uredostadium ausgeführt worden. Ueber diese Versuche liefert die Tabelle 3 eine Uebersicht. (Siehe Tabelle S. 600.)

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die Form auf Avena brevis zu der f. sp. Avenae, so wie diejenigen auf Hordeum murinum und H. comosum zu der f. sp. Secalis zu rechnen sind.

Nach der Tabelle könnte man sich auch vorstellen, daß die Form auf Briza virens mit der f. sp. Secalis identisch sei. Es muß jedoch bezweifelt werden, daß ein solcher Schluß richtig sei. Wenn man sich erinnert, daß die auf Briza maxima beobachtete Schwarzrostform nach der Tabelle 2 ganz sicher der f. sp. Avenae gehört, und wenn man zugleich bemerkt, daß die hervortretenden Ausschläge sich nur an 2 der 29 infizierten Stellen zeigten, mit nur einer Pustel an jeder Stelle, und daß keine Haferpflanzen in dieser Infektionsserie ergriffen waren, so kann man fragen, ob nicht die spärlichen und schwachen Ausschläge an den Roggenpflanzen am füglichsten mit denjenigen spärlichen Ausschlägen auf Roggen zu vergleichen seien, die nach der Tabelle 2 in den fortlaufenden Kulturen mit den Formen von Bromus madritensis, Festuca Myurus und Phalaris canariensis zum Vorschein kamen, und ob sie nicht auf dieselbe Weise wie jene erklärt werden müssen.

Tabelle III. Infektionsversuche mit Uredo graminis in den Jahren 1897—1900.

Infektions- No.	Jahr	Tag	Infektionsmaterial Herkunft	Flüssigkeit Grad	Flüssigkeit nach Std.	Infizierte Pflanzen Art	Zahl	Zahl der Infektionsstellen	+	9	11	12	15	16	17	18	20	21	23	24	33	35	39	40
1	1897	29./7.	Hordeum murinum	4	12	Hordeum vulgare	3	23	+	.	.	16												
2	„	„	„ „	„	„	Avena sativa	„	20	—															
3	„	24./8.	Avena brevis	„	14	Secale cereale	„	28	—															
4	„	„	„ „	„	„	Triticum vulgare	„	32	—															
5	„	„	„ „	„	„	Hordeum vulgare	„	24	—															
6	„	„	„ „	„	„	Avena sativa	„	27	+	12	.	.	.	.	.	.	.	.	.	24	24			
7	„	18./9.	Briza virens	„	20	Secale cereale	„	29	+	.	.	.	.	.	.	2	.	.	.	.	.	.	2 [1])	
8	„	„	„ „	„	„	Triticum vulgare	„	33	—															
9	1899	25./7.	Hordeum vulgare (cornutum)	„	14	Hordeum vulgare (decussatum)	„	„	+	.	.	.	.	.	.	1	.	.	1 [2])					
10	„	„	“ ”	„	„	„ „	4	27	+	.	15	.	.	.	.	20	.	.	20 [3])					
11	„	27./7.	Secale cereale (2)	„	20	Secale cereale (1)	3	39	+	9	.	.	.	19	.	.	.	22						
12	„	„	„ „	„	„	„ „ (2)	„	„	+	10	.	.	.	22	.	.	.	23						
13	„	„	Triticum vulgare (2)	3	21	Triticum vulgare (1)	„	28	+	5	.	.	.	12	.	.	.	12						
14	„	„	„ „	„	„	„ „ (2)	„	25	+	13	.	.	.	19	.	.	.	20						
15	„	28./7.	„ „ (2)	2	45	„ „ (1)	2	21	+	18	.	.	19	.	.	.	20							
16	„	„	„ „	„	„	„ „ (2)	3	30	+	30														
17	„	„	„ „	„	„	„ „ (1)	„	25	+	25														
18	„	„	„ „	„	„	„ „ (2)	„	„	+	25														
19	„	18./8.	Lamarckia aurea	4	26	Secale cereale	2	13	—															
20	„	„	„ „	„	„	Avena sativa	3	„	+	.	.	.	.	.	5	.	.	.	.	.	.	.	.	7
21	„	„	„ „	„	„	Triticum vulgare	„	19	—															
22	„	23./8.	Alopec. alpinus var.[4])	3	24	Avena sativa	„	22	—															
23	„	„	Hordeum comosum	„	„	Triticum vulgare	„	28	—															
24	„	„	„ „	„	„	Hordeum vulgare	„	22	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	6		
25	„	„	„ „	„	„	Avena sativa	„	17	—															
26	„	„	„ „	„	„	Secale cereale	2	18	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	18		

1) An jeder Stelle nur eine kleine Pustel. — 2) Die infizierten Pflanzen älter, nach Saat vom 30. Juni. — 3) Die infizierten Pflanzen jünger, nach Saat vom 10 Juli. — 4) Var. magellanicus.

Die Versuchsnummern 11—18 waren zu demselben Zwecke angeordnet, wie die Versuchsnummern 21—22 der Tabelle 1, nämlich um die Frage zu beantworten, ob vielleicht die Spezialisierung so weit durchgeführt sein könnte, daß die Pilzformen der Winter- und die der Sommerrassen einer und derselben Getreideart ihrem inneren Wesen nach verschieden seien. Die Antwort auf diese Frage fiel negativ aus. Damit war auch die Möglichkeit weggefallen, das ungleichzeitige Hervortreten derselben Pilzform an dem Winter- und an dem Sommergetreide aus dem Spezialisierungsphänomen selbst zu erklären.

Die Versuchsnummern 9—10 zeigen offenbar, welche Bedeutung das Alter der infizierten Blätter für den Ausfall der Infizierung hat. An den 25 Tage alten Pflanzen traten positive Ergebnisse nur in 1 Falle unter 33 hervor, an den weit zarteren, nur 15 Tage alten Pflanzen aber in 20 Fällen unter 27.

Stellt man die neugewonnenen Versuchsresultate mit denjenigen der früher ausgeführten und beschriebenen Versuche zusammen, so ergiebt sich, daß in Schweden die Spezialisierung des Getreideschwarzrostes, soweit bis jetzt erforscht ist, auf folgende Weise durchgeführt worden ist:

A. Scharf fixiert.

a) Heterofage.

1) f. sp. **Avenae** auf Avena sativa, A. elatior, A. sterilis, A. brevis, Dactylis glomerata, Alopecurus pratensis, Milium effusum, Lamarckia aurea, Trisetum distichophyllum, Koeleria setacea, Bromus arvensis, B. brachystachys, B. madritensis, Festuca Myurus, F. tenuiflora, Vulpia bromoides, Phalaris canariensis, Phleum asperum, Briza maxima . . . . . [d. h. auf Hafer + 18 Grasarten];

2) f. sp. **Secalis** auf Secale cereale, Hordeum vulgare, H. jubatum, H. murinum, H. comosum, Triticum repens, T. caninum, T. desertorum, Elymus arenarius, E. sibiricus und Bromus secalinus . . . . . [d. h. auf Roggen, Gerste und 8 Grasarten];

b. Isofage.

3) f. sp. **Airae** auf Aira caespitosa und A. bottnica . . . . . [d. h. auf 2 Grasarten];

4) f. sp. **Agrostis** auf Agrostis canina und A. stolonifera . . . . . [d. h. auf 2 Grasarten];

5) f. sp. **Poae** auf Poa compressa, (P. caesia und P. pratensis) . . . . . [d. h. auf 1(—3) Grasarten].

B. Nicht scharf fixiert.

6) f. sp. **Tritici** auf Triticum vulgare, (Hordeum vulgare, Secale cereale und Avena sativa), [d. h. auf Weizen, bisweilen auch Gerste, Roggen und Hafer ansteckend].

Außer den jetzt aufgezählten Formen sind noch die auf Aira flexuosa, A. grandis, Alopecurus nigricans, Avena barbata, A. chinensis, A. purpuracea, Bromus adoen-

sis, Elymus glaucifolius, Panicum miliaceum, Poa alpina, P. aspera, P. Chaixii, Secale dalmaticum, Triticum unicum und T. ventricosum beobachteten Formen insoweit geprüft worden, daß mit denselben Infektionsversuche auf Berberis vulgaris ausgeführt wurden, woraus hervorging, daß auch diese dem echten Schwarzroste (Puccinia graminis) und nicht dem Thimotheegrasroste (P. Phlei pratensis), zugehören. Bis jetzt liegen jedoch keine Versuche vor, wodurch diese Formen an ihre richtigen Plätze in der Schwarzrostspecies gestellt werden könnten.

* * *

Durch die jetzt referierten Untersuchungen ist die Zahl der in Schweden schwarzrosttragenden Gräser, deren Rostformen an ihre systematischen Plätze innerhalb der Pilzart gestellt sind, von 22 auf 36 oder 38 gestiegen, und diese sind auf folgende Weise gruppiert:

1) f. sp. Avenae auf Hafer und 18 Grasarten,
2) „ Secalis „ Roggen, Gerste und 8 Grasarten,
3) „ Tritici „ Weizen,
4) „ Airae „ 2 Grasarten,
5) „ Agrostis „ 2 Grasarten und
6) „ Poae „ 1(—3) Grasarten.

Auffallend ist das große Uebergewicht des Haferschwarzrostes. Diese Form zeigt eine Zahl von Wirtspflanzen, die fast ebenso groß ist, wie die sämtlicher übrigen Schwarzrostformen zusammen. Auf die Form des Hafers folgt die des Roggens, und in letzter Linie kommt die des Weizens. Soll man dieses Verhältnis dem reinen Zufall zuschreiben oder kann man sich eine natürliche Erklärung davon denken?

Ehe wir daran gehen, diese Frage zu beantworten, wollen wir zuerst nachsehen, was man über die Spezialisierung des Schwarzrostes in anderen Ländern kennt, und untersuchen, ob dieselbe dort auf dieselbe Weise wie in Schweden stattgefunden hat. Das einzige Land, aus dem eine zum Vergleich recht brauchbare Erfahrung vorliegt, bilden die Vereinigten Staaten von Nordamerika, wo M. A. Carleton (I) in den Jahren 1896—98 umfassende Untersuchungen über die amerikanischen Getreideroste ausgeführt hat.

Besonders zahlreich waren die dort mit dem Haferschwarzroste, f. sp. Avenae, ausgeführten Versuche, deren Material vom Hafer selbst geholt war. Die Resultate waren:

\+ (= sicher positiv) auf Avena sativa (22)[1]), Dactylis glomerata (5), Hordeum murinum (5), Avena pratensis (3), A. fatua (2), Agrostis scabra (1), Alopecurus alpestris (1), Ammophila arenaria (1), Bromus ciliatus (1), Eatonia obtusata (1), E. sp. ined. (1), Festuca sp. ined. (1), Holcus mollis (1), Koeleria cristata (1), Phleum asperum (1), Polypogon monspeliensis (1) und Trisetum subspicatum (1);

---

1) Die Ziffer in der Klammer hinter dem Speciesnamen bezeichnet die Zahl der mit der betreffenden Form ausgeführten Versuchsnummern.

(+) (= unsicher positiv) auf Bromus unioloides (1), Lolium perenne (1), Phleum pratense (1) und Triticum villosum (1); und

— (= sicher negativ) auf Triticum vulgare (33), Hordeum vulgare (7), Zea Mays (6), Secale cereale (5), Agrostis alba vulgaris (2), Panicum Crus-galli (2), Sporobolus cryptandrus (2), Androprogon halapense (1), Anthoxanthum odoratum (1), Bouteloua curtipendula (1), Brizopyron siculum (1), Eatonia Dudleyi (1), Eleusine egyptiaca (1), Elymus virginicus (1), E. sp. ined. (1), Festuca arundinacea (1), F. gigantea (1), F. ovina (1), F. rubra glaucescens (1), Hordeum jubatum (1), H. nodosum (1), Panicum sp. [Sibirian Millet] (1), Phalaris arundinacea (1), Poa annua (1), P. pratensis (1), Saccharum officinarum (1), Schedonorus paniculatus (1), Sporobolus asper (1), Triodia cuprea (1), Triticum monococcum (1), T. Spelta aestivum (1) und T. S. amyleum (1).

Außerdem wurde auf Avena sativa ein Infektionsversuch mit Material von Dactylis glomerata und ein Versuch mit Material von Avena elatior ausgeführt, beide mit positivem Erfolge.

Recht zahlreich waren auch die mit dem Weizenschwarzrost, f. sp. Tritici, ausgeführten Infektionsversuche, deren Sporenmaterial von Weizen stammte. Ihre Resultate waren folgende:

\+ auf Triticum vulgare (18), Hordeum vulgare (5), Elymus virginicus (2), Agropyrum Richardsonii (1), Dactylis glomerata (1), Festuca gigantea (1), Hordeum murinum (1), Koeleria cristata (1) und Triticum monococcum (1);

(+) auf Avena sativa (3); und

— auf Secale cereale (4), Agropyrum spicatum (1), Agrostis alba vulgaris (1), Anthoxanthum odoratum (1), Holcus mollis (1), Lolium perenne (1), Melica altissima (1), Poa nemoralis (1), P. pratensis (1) und Sporobolus asper (1).

Außerdem wurden Infektionsversuche ausgeführt:

a) mit Material von Hordeum vulgare; Resultate:

\+ auf Triticum vulgare (1); und

— auf Avena sativa (1), Hordeum nodosum (1), Secale cereale (1) und Zea Mays (1);

b) mit Material von Hordeum jubatum; Resultate:

\+ auf Triticum vulgare (4) und Hordeum vulgare (2); und

— auf Avena sativa (2), A. elatior (1), Dactylis glomerata (1), Hordeum nodosum (1), Secale cereale (1), Triticum villosum (1) und Zea Mays (1); und

c) mit Material von Elymus canadensis glaucifolius; Resultate:

\+ auf Triticum vulgare (3), Hordeum vulgare (2), Elymus canadensis (1), E. c. glaucifolius (1) und Hordeum jubatum (1); und

— auf Avena sativa (2), Secale cereale (2), Agropyrum Richardsonii (1), A. spicatum (1), A. tenerum (1), Agrostis alba vulgaris (1), Dactylis glomerata (1), Elymus hirsutiglumis (1), E. virginicus (1) und E. v. muticus (1).

Es ist freilich Thatsache, daß die amerikanischen Versuche sich von den schwedischen in Plan und Ausführung unterscheiden, infolgedessen die in dem einen und in dem anderen Lande gewonnenen Resultate nicht vollständig unter sich vergleichbar sind. In den amerikanischen Versuchen ging man in der Mehrzahl der Fälle von der Getreideart auf die Grasart über, d. h. man infizierte mit von der Getreideart geholtem Sporenmaterial die Grasart, während man in den schwedischen Versuchen umgekehrt von der Grasart auf die Getreideart überging. Es läßt sich ja denken, daß in gewissen, vielleicht in manchen Fällen die in dem amerikanischen Berichte besprochenen positiven Ergebnisse nicht als Beweise dafür gelten können, daß die Schwarzrostformen der betreffenden Grasarten — wenn diese überhaupt dort im Freien rostig auftreten — mit der Rostform des betreffenden Getreides identisch seien, sondern nur als arteficielle, abnorme Kulturen ohne irgendwelche praktische Bedeutung zu betrachten seien, analog z. B. den Ausschlägen von Uredo agropyrina auf Secale cereale und auf Bromus arvensis oder von Uredo bromina auf Secale cereale (Eriksson, V, 264). Man hat spezielle Ursache, dieses zu vermuten, da man unter den vielen Grasarten, die einen Teil der amerikanischen Versuche bildeten, nicht so wenige trifft, z. B. Zea Mays, Saccharum officinarum, Melica altissima, Panicum Crus-galli, Poa annua, Festuca arundinacea u. a., auf denen der Schwarzrost, so viel man weiß, niemals beobachtet worden ist, weder in der neuen noch in der alten Welt.

Ein anderer Umstand bei den amerikanischen Versuchen ist der, daß bei denselben nur angegeben wird, wie zahlreich die Versuchsnummern sind, nicht aber an wie vielen Stellen jeder Nummer Infektionen mit positivem und mit negativem Erfolge ausgeführt worden sind. Die vorliegenden Ziffern geben also nicht so genau, wie die aus Schweden zugänglichen, die wirkliche Beschaffenheit der Spezialisierung an.

Jedenfalls kann man doch aus den amerikanischen Versuchen, so wie sie vorliegen, schließen, wie sich in der Hauptsache die in der neuen Welt auftretenden Hafer- und Weizenschwarzroste spezialisiert haben.

Berücksichtigt man zuerst den Haferschwarzrost, f. sp. Avenae, so scheint es, als ob sein Kreis von Wirtspflanzen in Nordamerika hauptsächlich derselbe wäre wie in Schweden. In beiden Ländern trifft man als gemeinsame Wirtspflanzen Avena sativa, A. elatior und Dactylis glomerata, vielleicht auch Phleum asperum[1]), und man findet außerdem in beiden Ländern Arten

1) Versuche sind in Nordamerika von Avena sativa aus auf Phleum asperum ausgeführt, nicht aber umgekehrt.

der Gattungen Alopecurus, Bromus, Festuca, Koeleria und Trisetum für die Ansteckung durch Haferrost empfänglich. Endlich ist zu bemerken, daß keine derjenigen Grasarten, die sich in Nordamerika gegen Haferschwarzrost immun zeigten, in Schweden mit dieser Rostform behaftet angetroffen ist. Das einzige eigentlich Abweichende in den amerikanischen Versuchen gegenüber dieser Form bilden die zahlreichen positiven Ausschläge auf Hordeum murinum, an welcher Grasart in Schweden eine der f. sp. Secalis gehörige Schwarzrostform beobachtet worden ist.

Sehr abweichend stellt sich aber in Nordamerika, nach den vorliegenden Versuchen zu urteilen, die Spezialisierung des Weizenschwarzrostes, f. sp. Tritici. Die genannten Versuche nötigen uns, als Wirtspflanzen dieser Form nicht nur Triticum vulgare selbst, sondern auch Hordeum vulgare, H. jubatum und Elymus canadensis, vielleicht auch Elymus virginicus[1]), aufzunehmen, während diese Schwarzrostform in Schweden nur auf Weizen vorkommt und die auf Hordeum vulgare und H. jubatum, wie auch die auf Elymus arenarius und E. sibiricus auftretenden Formen sicher der f. sp. Secalis zugehörig sind.

In hohem Grade auffallend muß man besonders die Verschiedenheit der Gerstenschwarzrostformen in den zwei Ländern finden, daß die in Schweden vorkommende Form mit der f. sp. Secalis, die in Nordamerika aber, wenigstens in der Regel[2]), mit der f. sp. Tritici identisch ist. Damit ist, wenigstens in einem Falle, konstatiert, daß die Spezialisierung einer und derselben Schmarotzerart in verschiedenen Ländern auf ungleiche Weise durchgeführt ist. Wichtig sind die Konsequenzen dieser Konstatierung. Man sieht dadurch ein, wie vorsichtig man künftig sein muß, wenn man aus der in einem Lande gewonnenen Erfahrung von der Natur einer Pilzart über die Verhältnisse in einem anderen Lande schließen will, besonders wenn die beiden Länder weit voneinander entfernt und in ihren Naturverhältnissen wesentlich verschieden sind. Damit hat aber auch eine Aussicht sich eröffnet, die einander widersprechenden Versuchsergebnisse, die man zuweilen bei der Untersuchung einer und derselben Pilzart in verschiedenen Ländern erhalten hat oder erhält, befriedigend zu erklären, ohne genötigt zu sein, die Resultate des einen oder des anderen Forschers als unrichtig zu verwerfen.

Wie man eine solche Verschiedenheit der Spezialisierung, wie die oben beschriebene, richtig deuten soll, ist noch unmöglich, sicher zu entscheiden. In erster Linie muß man sich das Vorhandensein einer wesentlichen Verschiedenheit zwischen Schweden und Nordamerika mit Rücksicht auf die Getreidekultur im allgemeinen denken, wodurch in den einzelnen Ländern eine verschiedene

1) Versuche sind in Nordamerika von Triticum vulgare aus auf Elymus virginicus ausgeführt, nicht aber umgekehrt.

2) Carleton (I, 56) meint, daß in Nordamerika auf Hordeum vulgare wie auf H. jubatum noch eine zweite Schwarzrostform auftritt, die auch Roggen ansteckt.

Vitalität der Pilzformen und somit auch eine verschiedene Spezialisierung dieser Formen bedingt sei. Wir wollen nachsehen, ob ein derartiger Aufschluß aus schon bekannten Verhältnissen zu holen sein mag.

Wenn man die in Schweden auftretenden Schwarzrostformen nach ihrer verschiedenen Vitalität ordnet, so ist es unbestreitbar, daß der Haferschwarzrost, f. sp. Avenae, den ersten Platz einnimmt. Diese Form zeigt ihre Ueberlegenheit, wie schon oben hervorgehoben ist, durch höhere Keimkraft und Keimungsenergie sämtlicher Sporenformen, durch reichlichere und kräftigere Ausschläge bei den Infektionsversuchen, durch zerstörendere Verwüstungen der Getreideernten und durch das Vorkommen an einer größeren Anzahl, nach unserer jetzigen Kenntnis wenigstens an 19 Grasarten. Auf die Form des Hafers folgt in den genannten Hinsichten die für Roggen und Gerste gemeinsame f. sp. Secalis, die auf 11 Grasarten wahrgenommen worden ist. Die letzte Stelle nimmt f. sp. Tritici ein, deren einzige Wirtspflanzenart der Weizen ist.

Wenden wir uns dagegen nach Nordamerika, so stellen sich die Verhältnisse dort wesentlich anders. Wenn man die Vitalität der dortigen Formen nach der Zahl der Wirtspflanzenarten beurteilt, an denen sie beobachtet oder auf die sie übergeführt worden sind, so ist es freilich wahr, daß die f. sp. Avenae auch dort die erste Stelle, mit 17 Wirtspflanzenarten, einnimmt. Damit hört jedoch die Uebereinstimmung zwischen den zwei Ländern auf. An die zweite Stelle kommt nämlich die für Weizen und Gerste gemeinsame f. sp. Tritici mit 9 Wirtspflanzenarten. Zuletzt reiht sich der Roggenschwarzrost ein, eine so seltene Rostform, daß Carleton keine Gelegenheit gehabt hat, dieselbe in seinen Versuchen mit zu berücksichtigen.

Darf man diese Unterschiede der Vitalität in dem einen und in dem anderen Lande einem blinden Zufalle zuschreiben, oder muß man dieselben nicht eher mit dem verschiedenen Umfang in Verbindung bringen, in dem diese Getreidearten in den beiden Ländern angebaut werden?

In Schweden ist der Hafer das unbedingt erste Getreide. Die Produktion desselben betrug z. B. im Jahre 1891 10 Millionen Deziton, während gleichzeitig die Produktion von Roggen 5 Mill., die von Gerste 3 Mill., und die von Weizen 2 Mill. ausmachte. Durch die also weitgetriebene Haferkultur ist wohl, so muß man voraussetzen, ein besonders reicher und passender Boden grade für den Haferschwarzrost bereitet. In den verschiedensten Lagen und Bodenarten ist seit langer Zeit die Haferpflanze dem hungernden Schmarotzer fast überall zugänglich gewesen. Dieser hat dadurch reiche Gelegenheit gehabt, an günstigen Lokalitäten solche Rassen herauszubilden, die besonders lebenskräftig waren und also eine überlegene Fähigkeit besaßen, Hafer so wie viele andere Gräser anzustecken. Vielleicht muß man auch als einen begünstigenden Faktor den Umstand mitrechnen, daß diese Pilzform in Schweden keinen gefährlichen Nebenbuhler in der Herrschaft über die Hafer-

pflanze hat. Es giebt freilich noch eine zweite Haferrostart, den Haferkronenrost (Puccinia coronifera, f. sp. Avenae), aber diese Art, die eine an sich südlichere Form bildet und die erst in südlicheren Breiten, z. B. in Deutschland, eine höhere Entwickelung erreicht, fristet in Schweden, wenigstens in dessen mittleren und nördlichen Teilen, ein nur kümmerliches und schwindendes Dasein. Ein Jahr kann auf das andere folgen, ohne daß Kronenrost auf Hafer zum eigentlichen Vorschein kommt. Nur für den Fall, daß der Schwarzrost gegen besonders ungünstige Witterungsverhältnisse hat kämpfen müssen, erreicht der Kronenrost eine nennenswerte Entwickelung. (Schluß folgt.)

Referate.

Bericht über die wissenschaftlichen Arbeiten der deutschen Südpolarexpedition auf der Fahrt von Kiel bis Kapstadt, nebst Mitteilungen über das Expeditionsschiff „Gauss“ und die Errichtung der Kerguelenstation. Berlin 1902. V. Bakteriologische Untersuchungen von Dr. H. Gazert. p. 53—55.

Die bisher auf dem „Gauss“ gemachten bakteriologischen Untersuchungen erstreckten sich auf die Ermittelung des Keimgehaltes und die Anwesenheit nitrifizierender und denitrifizierender Bakterien. Der Keimgehalt wurde an ein und derselben Stelle in verschiedenen Tiefen von der Oberfläche bis zu 1800 m, meist in Abständen von 100—200 m festgestellt. Das Oberflächenwasser im freien Atlantischen Ocean enthielt eine außerordentlich geringe Anzahl an Keimen; mehrmals konnten sogar keine Keime in 4—6 cm^2 nachgewiesen werden. Eine Kontrolle gewährte die Nitritbouillon zum Nachweis denitrifizierender Bakterien, die mit 15—20 cm^2 des Untersuchungswassers beschickt wurde. Es zeigte sich, daß jedesmal in letzteren Proben Trübung eintrat, die Keime also nicht vollkommen fehlten. Verf. fand in 1 cm^2 0—9 Keime und mehrfach nur 1 Keim in 10 cm^2. In tieferen Schichten bis zu 1800 m war meist, jedoch nicht konstant, ein Abfallen der Keimzahl bemerkbar. Oefter wurde trotz Keimarmut des Oberflächenwassers in den tieferen Schichten eine größere Keimzahl gefunden, so in 480 m Tiefe 20 Keime in 1 cm^2, in 700 m 3 und in 1800 m 6 Keime bei einer Temperatur von 2,5°. Die Zahl der Keime war nicht von der Tiefe, sondern außer von der Temperatur vor allem von den Nahrungsstoffen abhängig, die in verschiedenen Tiefen in verschiedenen Mengen vorhanden sind.

Besonderes Augenmerk richtete Verf. auf das Vorkommen von Keimen in großen Tiefen und auf dem Meeresgrunde (in Grundproben und dem Grunde nahem Bodenwasser). Unter 12 Grundproben waren 7 keimhaltig, 5 keimfrei, unter 14 Proben von Bodenwasser waren 7 keimfrei. Die untersuchten Mikroorganismen waren fast nur Bakterien, meist von Stäbchenform, in einigen Fällen von

Spiralform; sie waren beweglich. In einigen Fällen waren Kokken vorhanden, deren Vorkommen im Meerwasser von mancher Seite bestritten wurde. Alle diese Bakterien produzierten Ammoniak bezw. Aminbasen. Nitroso- und Nitrobakterien enthielt das Seewasser nicht. In den Bodenproben scheint jedoch aus den Reaktionen das Vorkommen der Bakterien wahrscheinlich. Denitrifikationsbakterien wurden nur in wenigen Fällen gefunden, einige Male im Oberflächenwasser, einige Male auch in Tiefen bis zu 1800 m. 3mal im Bodenwasser und nur 1mal in einer Grundprobe. In den meisten Fällen trat keine Denitrifikation ein. Ebenso wurden die Organismen im Darm von Albatros, Sturmvogel (Estrelata), Hai and Delphin vermißt. Ludwig (Greiz).

Errera, L., Sur une bactérie de grandes dimensions: Spirillum colossus. (Recueil de l'Institut Botanique, université de Bruxelles. T. V. Brüssel 1902.)

In einem zeitweise mit Meerwasser gespeisten alten Festungsgraben fand sich, unter zahlreichen interessanten Einzelligen, ein Spirillum von ungeheurer Größe; die Zellen sind 2,5—3,5 μ dick, in $^1/_2$—$2^1/_2$ Windungen gekrümmt, letztere meist sehr flach, oft die Zellen fast ganz gerade. Die Spirillen haben an jedem Ende 8—10 sehr deutliche, 10—16 μ lange Geißeln. Im mäßig stark lichtbrechenden Protoplasma liegen Körnchen, inmitten der Zelle gehäuft, die Enden freilassend; sie färben sich mit Jodjodkalium wie auch mit Chlorzinkjod in verschiedenen Nuancen gelb; ihr Centrum ist schwächer lichtbrechend als die Peripherie. In wässeriger Lösung von Gentianaviolett färbt sich das Protoplasma mäßig, die Körnchen sehr stark, die Geißeln nehmen keine Farbe an. Mit Millon's Reagens geben die Spirillen keine Reaktion, nur die Membran hebt sich vom Inhalt ab und wird besonders deutlich.

Von Spirillum volutans und Sp. giganteum ist die neue Art schon durch ihre viel größeren Dimensionen sicher unterschieden, vielleicht aber identisch mit dem 1875 von Warming an der Küste Dänemarks entdeckten Spirillum volutans var. robustum.

Unter den echten Bakterien (im Sinne Migula's) ist Sp. colossus, soweit bekannt, weitaus die größte Art.

Hugo Fischer (Bonn).

Barker, B. T. P., A conjugating yeast. (Philosoph. Transact. of the Royal Soc. of London. Ser. B. Vol. CXCIV. p. 467. Mit Taf. 46.)

Nachdem bereits Schiönning für Schizosaccharomyces vor einigen Jahren nachgewiesen hatte, daß der Sporenbildung eine Kopulation vorhergeht und diese Beobachtung durch Hoffmeister ihre Bestätigung gefunden hatte, bringt Barker in der vorliegenden Arbeit eine Beobachtung ähnlicher Art. In käuflichem Ingwer wurde eine Hefe gefunden, die sich in ihren vegetativen Zuständen von gewöhnlichen Bierhefen nicht sonderlich unterschied.

Plattenkulturen auf Bierwürzegelatine zeigten nach 3—4 Tagen winzige Punkte, nach 8 Tagen stecknadelkopfgroße, rundliche, bräunlich-weiße, milchige Kolonieen. Tiefenkolonieen erscheinen braun und sehen wie wollig behaart aus. Diese scheinbare Behaarung erklärt sich dadurch, daß die Hefen lange Sproßverbände treiben, die seitlich nicht verzweigt sind, sondern bloß am Ende in gerader Linie weiter sprossen. Auch Strichkulturen wurden studiert.

In allen alten Kulturen auf beliebigen Substraten fand sich Sporenbildung vor. Durch Ausstreichen von kräftigen Kulturen in Bierwürze auf sterile Gipsblöcke oder poröses Porzellan werden innerhalb 2 Tage Sporen erzielt, wenn die Kultur bei 25^{0} C gehalten wird.

Die sporentragenden Zellen weichen in ihrem Aussehen weit von dem der vegetativen ab. Es erscheinen 2 Zellen durch eine Brücke verbunden und in jeder Zelle findet sich eine Anzahl von Sporen. Häufig sind in jeder Zelle 2 vorhanden, oft 3 und 1, oder 4 und 4, selten sind noch höhere Zahlen. Um die Entwickelung dieser eigentümlichen Gebilde zu studieren, verfolgte Verf. einzelne Zellen in Hängetropfen von destilliertem Wasser. Besser ist, wenn diese Zellen nicht unmittelbar aus einer Kultur, sondern von einem Gipsblock in das Wasser übertragen werden; die Sporenbildung erfolgt dann schneller.

Man beobachtet dann, wie zwei benachbarte Zellen einen dünnen Fortsatz gegeneinander treiben, der anfangs wie eine beginnende Sprossung aussieht. Die Fortsätze verschmelzen an der Spitze und es entsteht zwischen den beiden Zellen eine offene Kommunikation. In seiner typischen Form sieht ein solches Zellenpaar wie eine Hantel aus. Dann entstehen in beiden Zellen die Sporen. Verf. hat sich nicht mit diesem rein morphologischen Befunde begnügt, sondern er hat versucht, durch Färbung die Kernvorgänge bei der Kopulation und Sporenbildung zu sehen.

Zu diesem Zwecke wurde eine Kultur auf porösem Porzellan in Härtungsflüssigkeit gelegt und auf dem Objektträger nach der Fixierung etwas Material in Wasser ausgestrichen. Nach Abtrocknen des Wassers wurde dann gefärbt. Zur Fixierung diente Jodjodkalium, Merkel's Lösung und Rath's Lösung. Von Färbemitteln wurden als tauglich befunden Fuchsin-Methylgrün, Hämatoxilineisenlack, Eosin und Toluidinblau und Flemming'sche Lösung. Es zeigte sich im Centrum der Zelle eine dunkelgefärbte Partie, die aus tief gefärbten Granula zu bestehen schien. Die schwach gefärbte Plasmapartie zeigte einige Granula. Wenn eine Zelle einen Kopulationsschlauch trieb, so rückte die dunkel gefärbte Partie nach der Spitze des Schlauches. Nach der Kopulation fand in einer der beiden Zellen eine Kopulation der beiden dunkelgefärbten Gebilde statt. Dann muß wieder eine Teilung eintreten, die aber nicht beobachtet wurde. Die eine Hälfte geht in die leere Zelle zurück, die andere bleibt an Ort und Stelle. Durch weitere Teilungen dieser Partieen entstehen dann die Sporen. Verf. giebt seiner Ueberzeugung Ausdruck, daß man es hier mit

Kernen zu thun hat. Es würde dann also eine Kernverschmelzung stattfinden, darauf abermalige Teilung, Zurückwandern des einen Tochterkernes und endlich Teilung zur Bildung der Sporenkerne. Nach dem Vorgange bei Schizosaccharomyces hat diese Ansicht große Wahrscheinlichkeit für sich.

Unter gewissen Umständen hat Verf. auch unregelmäßige Sporenbildungen beobachtet. Bald war es nicht zur normalen Ausbildung der Kopulationsbrücken gekommen, bald versuchten drei Zellen zu kopulieren, bald wieder war die Sporenbildung nicht vollendet worden. Die Sporen keimen mit Sproßverbänden aus.

Verf. nennt die Gattung Zygosaccharomyces[1]) und knüpft daran Betrachtungen über den Wert der Kopulation. Er ist der Meinung, daß es sich hier um eine echte Befruchtung handelt, die sich durch die Verschmelzung der Kerne charakterisiert. Wir würden also hier einen Geschlechtsakt in primitivster Form vor uns haben.

Lindau (Berlin).

Neumann, P., Ueber das Vorkommen von N-assimilierenden Bakterien im Ackerboden. (Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. LVI. 1902. p. 203.)

Man hat bislang keine zufriedenstellenden Ergebnisse mit denjenigen Versuchen erzielen können, welche bezwecken, die in den Knöllchen der Leguminosen enthaltenen Bakterien auf künstlichen Nährboden zu einer Assimilation des freien, ungebundenen N der Atmosphäre zu veranlassen. Verf. suchte nun festzustellen, ob vielleicht diejenigen Bakterien, welche in allernächster Nähe der Knöllchen im Erdboden sich vorfinden, oder die auf dem oberirdischen Kraut vorhandenen, in besonders hohem Grade zur N-Assimilation befähigt wären. Es zeigte sich bei den angestellten Versuchen, daß in den verschiedenen Nährböden allerdings eine Assimilation des N stattgefunden hatte; dieselbe ist aber hauptsächlich abhängig von der den Bakterien zur Verfügung stehenden organischen Substanz. Mit Torf vermochte man die Organismen nicht zu ernähren; weiterhin wirkte auch die aus den Wurzeln bereitete Nährflüssigkeit ziemlich mangelhaft, hingegen ganz gut eine Nährflüssigkeit, welche man durch Verarbeitung des grünen Krautes von Vicia faba erhalten hatte. In derselben sollen an organischen Substanzen nach der Ansicht des Verf. nur schwer lösliche Pentosen vorhanden gewesen sein.

Heinze (Halle a. S.)

Nobbe, F. und **Richter, L.**, Ueber den Einfluß des Nitratstickstoff und der Humussubstanzen auf den Impferfolg bei Leguminosen. (Landw. Versuchsst. Bd. LVI. 1902. p. 441 ff.)

Die im Laufe der Jahre verschiedentlich gemachte Beobachtung, daß die Impfwirkung bei Versuchen mit Knöllchen-

1) Saccardo nennt in Sylloge. Bd. XVI. p. 818 die Art Z. Barkeri Sacc. et Syd.

bakterien an Leguminosen sehr von den im Boden bereits vorhandenen assimilierbaren N-Verbindungen abhängig ist, sowie die Thatsache, daß diese Erscheinung ganz besonders auffallend dann hervortritt, sobald dem Boden künstlich größere Mengen Nitrat-N zugeführt wurden, oder eine humusreiche Erde als Nährmedium verwendet wurde, nötigten zu der Annahme, daß die Funktion der Knöllchen durch die Gegenwart von Salpetersäure bezw. Humussubstanz ungünstig beeinflußt wird. Zweck der vorliegenden Untersuchungen war es nun, diese Annahme auf ihre Richtigkeit hin nochmals zu prüfen und es konnte mit aller Sicherheit wiederum festgestellt werden, daß gebundene HNO_3 und Humussubstanz den Impferfolg herabsetzen. Die Funktion der Knöllchen wurde in besonders hohem Grade durch Nitrate geschädigt; weniger stark war im Vergleiche damit die Schädigung, welche durch die Humussubstanzen bewirkt wurde.

Kleine Mengen Bodenstickstoff zur Anregung des Wachstums junger Pflanzen — bis zum Beginn der Bakteroïdenbildung — haben sich jedoch immer als vorteilhaft erwiesen.

Heinze (Halle a. S.).

Frömbling, Ein Beitrag zur Lärchenfrage. (Zeitschrift für Forst- und Jagdwesen. Bd. XXXIV. 1902. 5. Heft. p. 279—286.)

Verf. knüpft an die in verschiedenen Gegenden von Deutschland gemachte Erfahrung an, daß die älteren Lärchenbestände (etwa 50—100 Jahre) sich eines vorzüglichen Gedeihens erfreuen, während seit etwa 20 Jahren mit Neuanlage von Lärchenbeständen nur Mißerfolge erzielt werden, trotzdem daß ein Unterschied in den Bodenbedingungen und in der Behandlungsweise nicht vorliegt und sucht diese Erscheinung folgendermaßen zu erklären:

Die Lärche als ausgesprochener Hochgebirgsbaum gedeiht nur da außerhalb ihrer natürlichen Heimat gut, wo sie keinen Kampf mit gefährlichen Feinden zu bestehen hat; die ältesten, vor etwa 100 Jahren angelegten Lärchenkulturen wuchsen auf, ohne den Angriffen der Lärchenschädlinge ausgesetzt zu sein, welche natürlich erst ganz allmählich in diese neuen Kulturgebiete einwanderten. Als einzigen wirklich gefährlichen Feind der Lärche bezeichnet Verf. den Krebspilz (Peziza Willkommii); derselbe wird heute den jungen Lärchenbeständen verhängnisvoll, vermag aber an den älteren Lärchen keinen Schaden mehr anzurichten, weil einerseits die rauhe Rinde der alten Stämme den Sporen des Pilzes keinen günstigen Nährboden bietet, andererseits die jüngeren Triebe (mit gefährdeter Rinde) der alten Stämme sich außerhalb des Infektionsbereiches befinden. (Nach Beobachtungen des Verf.'s steigen die Krebssporen nicht über 10 m hinaus.) Außerdem lassen gewisse Erfahrungen darauf schließen, daß der Verbreitung der Krebssporen auch in horizontaler Richtung Grenzen gesteckt sind.

Verf. empfiehlt demnach zur Bekämpfung des Lärchenkrebses die Anlage von Kulturen in örtlich wie zeitlich größeren Abständen zu betreiben, in welchen die Krebssporen keinen günstigen Nähr-

boden vorfänden, so daß heute verseuchte Gegenden krebsfrei werden könnten.

Ref. möchte dem gegenüber hervorheben, daß der Pilz bekanntlich auch auf abgestorbenen und zu Boden gefallenen Lärchenästen gut gedeiht, weshalb eine vollkommene Unterdrückung der Lärchenseuche in der angegebenen Weise auf Schwierigkeiten stoßen wird.

Neger (Eisenach).

Appel, Otto, Der Erreger der Schwarzbeinigkeit bei den Kartoffeln. [Vorläufige Mitteilung.] (Berichte d. deutsch. Botan. Gesellsch. Bd. XX. 1902. p. 128.)

Die im Titel genannte Erscheinung konnte Verf. experimentell hervorrufen durch Impfung mit einem von ihm isolierten Mikroorganismus, den er Bacillus phytophthorus nennt.

Küster (Halle a. S.).

Boudier, E., Note sur deux nouvelles espèces de Champignons. (Bull. de la Soc. Bot. de France. 1901. p. 110. Mit Taf. III.)

Cercosporella Narcissi n. sp. erzeugte eine Krankheit von Narcissus poeticus, die mit dem Tode der befallenen Blätter endet. Der Parasitismus scheint ähnlich wie bei Botrytis cinerea zu sein. Es werden diejenigen Blätter zuerst befallen, die bereits aus irgendwelchen Gründen nicht mehr lebensfrisch sind. Erst von den befallenen Stellen aus geht der Pilz dann auch auf gesundes Gewebe über.

Scopularia Clerciana n. sp. kommt an faulendem Holze vor und hat für die lebende Pflanze weiter keine Bedeutung.

Lindau (Berlin).

Hennings, P., Einige neue japanische Uredineen. II. (Hedwigia. 1901. Beibl. p. 124.)

Die von Yoshinaga gesammelten Pilze enthalten eine ganze Reihe von Arten, die teils neu für Japan, teils neu für die Wissenschaft sind. Zu den ersteren gehören Uromyces Rudbeckiae f. virgaureae, Puccinia Lactucae, P. Carthami, Melampsora hypericorum, Aecidium Plectranthi. Als neu beschreibt Hennings Uromyces Yoshinagai auf Blättern von Pisum sativum, U. caraganicola auf den Blättern von Caragana chamlagu, Puccinia Smilacis chinae auf den Blättern von Smilax china, Uredo Thesii decurrentis auf Thesium decurrens und U. breviculmis auf den Blättern von Carex breviculmis. Lindau (Berlin).

Hennings, P., Einige neue japanische Uredineen. III. (Hedwigia. 1902. Beibl. p. 18.)

Uromyces Fatouae auf den Blättern von Fatoua pilosa, U. Saururi auf Blättern von Saururus Loureiri, Puccinia Ribis japonici auf Blättern von Ribes japonicum, P. Litseae (Pat.) Diet. et P. Henn. auf Blättern von Litsea glauca,

Aecidium Patriniae auf Blättern von Patrinia sabiosifolia, A. Eritrichi auf Blättern und Stengeln von Eritrichum pedunculare, A. Machili auf Blättern von Machilus Thunbergii, Uredo Zizyphi vulgaris auf Blättern von Zizyphus vulgaris.

Die interessanteste Form ist Puccinia Litseae. Sie besitzt nämlich äcidienartige Becher, die aber nie Sporen entwickeln, sondern immer nur vegetative langgestreckte Zellen enthalten. Die Teleutosporen sind zwar denen von Puccinia gleich, aber sie trennen sich leicht in die beiden Teilzellen.

Lindau (Berlin).

Brizi, V., Ricerche sulla perforazione delle foglie della vite. Nota preliminare. (Le Stazioni sperimentali agrarie italiane. Vol. XXXIV. 1901. p. 774—788.)

Die Durchbohrung der Rebenblätter wurde von Einigen für identisch mit dem Malnero oder anderen Weinkrankheiten zweifelhaften Ursprungs angesehen. Nun glaubt Verf., daß es sich nur um eine Erscheinungsform der gemeinen „antracnosi macchiata“ (gefleckten Anthrachnose) handelt. Der Ursprung besteht in der Erscheinung einzelner, winziger Pusteln von Gloeosporium ampelophagum, die auf den jungen Blättern als gelbe Flecken entstehen, auf welchen die sehr kleinen Acervuli später erscheinen, während das unterliegende Gewebe nekrotisiert und auf diese Weise sich ein kleines Loch öffnet. An den Rändern desselben vernarbt ringsum das Mesophyll, indem ein aus zwei oder drei Reihen abgeplatteter und nach außen verkorkter Zellen bestehender Ringwall sich ausbildet. Auch die Bedingungen und die Weite des Befallens der befleckten Anthrachnose und der Durchbohrung, der Abfall der Trauben, die Immunität der später angelegten Blätter (wofür das Feuchtigkeitsverhältnis der Luft eine große Bedeutung hat), und sogar der Schutzmittel (winterliches Bestreichen mit Eisensulfat) weisen auf eine und dieselbe Krankheit hin. Am Schlusse empfiehlt Verf. folgendes Gemisch: Eisensulfat 30 kg, Schwefelsäure 4 kg, Wasser 100 l. Ueber nähere Anwendungsweise vergl. Original. Pantanelli (Modena).

Brizi, V., Sopra una nova Botrytis parassita del Diospyros Kaki. (Le Stazioni sperimentali agrarie italiane. Vol. XXXIV. 1901. p. 767—777.)

Verf. beschreibt jene Krankheit des Kaki, der zufolge etwa vor der Reifung die Früchte vom Kelche sich lösen, während letzterer am Blütenstiele befestigt zurückbleibt. Wenn man die heimgesuchten, aber noch nicht ausgefallenen Kakifrüchte beobachtet, kann man überhaupt leicht konstatieren, daß unter einer der vier Kelchlacinien ein feiner, dem gemeinen Penicillium glaucum ähnlicher Flaum sich befindet, der jedoch einer Botrytis seinen Ursprung verdankt, welcher mit der die Edelfäule der Trauben verursachenden Botrytis cinerea zwar verwandt ist, aber durch einige morphologische Eigentümlichkeiten abweicht, so daß

Verf. ihn als selbständige Art mit dem Namen Botrytis Diospyri folgendermaßen beschreibt:

Caespitulis depresso-pulvinatis, albis, mucedineis, hyphis fertilibus hyalinis, ramoso-furcatis, apice attenuatis, conidiis racemosis, ovato ellipsoideis, hyalinis μ 8—10 » 6—8.

Es wird auch der Entwickelungskreis des Pilzes angegeben, welcher sich außer auf Kaki sehr gut auch auf Kartoffeln, Runkelrüben und Fleischbrühgelatine züchten läßt, ohne jedoch Fortpflanzungsorgane zu bilden. Der Eingangsweg soll unter dem Kelche sich befinden. Auch Impfungsversuche an gesunden Pflanzen fielen gut aus. Als Schutzmittel schlägt Verf. das Bestreichen des Kelches mit gewöhnlicher, etwas konzentrierter (2-proz.) Bordeauxbrühe vor. Pantanelli (Modena).

Silva Tavares, Joaquim da, As zoocecidias portuguezas. Enumeração das especies até agora encontradas em Portugal e descripção de dezesette novas. (Annaes de Sciencias Naturaes, Porto. Vol. VII. 1900. p. 17—108. Taf. I—II. Erschienen im Nov. 1901.)

Nach den zwei kleinen Schriften Trotter's über portugiesische Gallen erscheint hiermit eine umfangreiche und wichtige Arbeit über denselben Gegenstand. Der Umstand, daß diese in portugiesischer Sprache geschriebene und wenig zugängliche Arbeit eine Menge von Neuigkeiten enthält, sowie daß alle darin erwähnten Cecidien mir vorgelegt wurden, genügt, um auch den Umfang dieses Referates erklärlich zu machen. Von den 235 aufgeführten Cecidien werden hier nur solche erwähnt, die wenigstens dem Substrate nach neu sind. Wir teilen diese ein in:

1. Neue Cecidien, deren Erzeuger als neue Arten beschrieben sind.

Hierzu kommen 6 von Cynipiden, 11 von Dipteren und 1 von einer Blattlaus erzeugte Gallen.

Cynipiden-Gallen.

1) Andricus pseudo-inflator n. sp. (p. 35—36). Sexuelle Form. Die Galle (Taf. II, Fig. 12 u. 12A) hat große Aehnlichkeit mit der bekannten Triebspitzenschwellung von A. inflator Hart., unterscheidet sich aber von dieser durch bedeutend geringere Größe, da sie nur 5—6 mm in der Länge und 4—5 mm in der Breite erreicht, die inflator-Galle dagegen 12 mm lang und 7—8 mm breit wird. Sie erscheint im März an den Zweigspitzen von Quercus lusitanica var. Broteri S. Cout. und var. faginea Bess.; Imago im Mai und Juni desselben Jahres. [Dieselbe Galle erhielt ich auch von Prof. de Stefani aus Sicilien und von Dr. Trotter aus Italien; Substrat in beiden Fällen Qu. pubescens.]

2) Andricus Krajnovici n. sp. (p. 36—37). Agame Form. Bewirkt eine Rindengalle, welche der von A. corticis Hart. bewirkten nahe steht. Sie ist komprimiert cylindrisch oder fast trigonal, unten spitz zulaufend, in der Rinde tief eingesenkt, mit holziger, wenig dicker Wand, erreicht eine Höhe von 12 mm und eine Breite von 5 mm. In dem unteren Teile liegt die 4 mm hohe Larvenkammer, welche durch eine schwach konvexe Querwand von dem oberen, leeren, 5—6 mm langen, an der Innenwand längsgerieften und am Ende offenen Cylinder getrennt wird. Diese cylinderförmige Verlängerung unterscheidet die Galle sofort von der corticis-Galle. Wie letztere ist auch sie in der Jugend mit einem fleischigen, kegligen, später vertrocknenden und abfallenden Deckel versehen. Am Grunde älterer Stämme von Quercus lusitanica var. faginea. Imago im Frühlinge.

3) Andricus Nobrei n. sp. (p. 37). Aus Versehen wurde diesem Insekt

die unten zu beschreibende von einer neuen Trigonaspis-Art erzeugte Blattgalle zugeschrieben. Die wahre Nobrei-Galle ist dagegen eine Napfgalle; sie ist nur hanfkorngroß, eiförmig, weiß, dünnwandig, einkammerig und liegt tief eingebettet zwischen den Schuppen des Eichelnapfes. Auf Quercus lusitanica var. Broteri.

4) Cynips Panteli n. sp. (p. 42—44). Die schöne, von dieser Wespe erzeugte Galle (Taf. II, Fig. 1 u. 2; sehr defekt!) wird ebenfalls auf Kosten des Eichelnapfes gebildet. Sie erscheint im Juli und reift im September. Ihre Gestalt ist die eines abgestutzten, oben und in der Mitte von einer aus langen, flachen Fortsätzen bestehenden Krone gezierten, braungefärbten und mit einem glänzenden, klebrigen Stoffe überzogenen Kegels. Ihre Höhe erreicht 20 mm, die mittlere Breite 20—25, die obere nur 11—12. Die unteren Fortsätze stets mehr oder weniger zurückgekrümmt, 5—15 mm lang. Die Beschaffenheit der Galle ist holzig-schwammig. Am Grunde befindet sich die querovale Larvenkammer; eine ziemlich dicke Querwand trennt dieselbe von einem großen, nach oben allmählich schmäler werdenden Hohlraum, der am freien Ende der Galle mündet. Auf Quercus lusitanica var Broteri und faginea, sowie auf Q. toza. Imago im Januar oder Februar des 2. Jahres.

5) Trigonaspis Mendezi n. sp. (p. 45—46). Diese aptere Wespe bewirkt sehr zierliche, hellrote, seltener grünlichgelbe Blattgallen, welche aus einem walzenförmigen Stiel und einer schiffchenförmigen Erweiterung bestehen; Larvenkammer in der Mitte des erweiterten Teiles (Taf. II, Fig. 13). Die reifen Exemplare sind 4—5 mm hoch und 3—4 mm breit; sie sitzen an der Unterseite einer Mittel-, seltener einer Nebenrippe, erscheinen im Juli oder August und fallen im Herbste ab. Auf Q. lusitanica var. Broteri und var. faginea. Imago im Januar oder Februar des 2. Jahres.

6) Plagiotrochus Kiefferianus n. sp. (p. 48—49). Agame Form! Diese erste agame Form aus der Gattung Plagiotrochus bewirkt kuglige oder längliche Zweigschwellungen, die von den Neuroterus macropterus Hart.-Gallen nicht zu unterscheiden sind; die zahlreichen Larvenkammern liegen in der Holzschicht. Imago im März und April des 2. Jahres. Wahrscheinlich ist Plagiotrochus ilicis Fabr. als sexuelle Form hierzu gehörend, da die Gallen beider Formen auf denselben Sträuchern häufig vorkamen. Auf Quercus Ilex var. genuina P. Cout., sowie auf Q. coccifera var. vera DC. und var. imbricata DC.

[Die von Fonscolombe als Diplolepis ramulorum Fonsc. beschriebene Gallwespe bewirkt ebenfalls eine „rundliche oder längliche Zweigschwellung auf Q. coccifera", ob dieselbe aber mit P. Kiefferianus Tav. oder mit Dryocosmus (?) Fonscolombei Kieff., welche beide Zweigschwellungen verursachen, übereinstimmt, wage ich nicht zu entscheiden; die Beschreibung der D. ramulorum Fonsc. stimmt am besten für den in Blattgallen lebenden Dryocosmus australis Mayr. — Von No. 4—6 wurden die Gallen bereits in Les Cynipides (Spec. Hymén. André) beschrieben; dieselben sind bei Tavares jedoch teilweise dem Substrat nach neu. Der Ref.]

Dipteren-Gallen.

Von den 11 neuen Cecidien werden die 8 ersten von Cecidomyiden, die 3 letzten von Musciden erzeugt.

1) Perrisia coronillae n. sp. (p. 56—58). Die roten Larven leben gesellschaftlich in einer Triebspitzen- oder Blattachselgalle; dieselbe ist unregelmäßig rundlich oder eiförmig, 8—9 mm lang und 7—8 mm breit und besteht aus einer Anhäufung von meist rotgefärbten, in ihrer Entwickelung gehemmten und fleischig verdickten Blättchen (Taf. I, Fig. 2). Verpuppung im Mai. Imago noch in demselben Monat. Auf Coronilla glauca L.

2) Perrisia Broteri n. sp. (p, 58—59). Die Galle (Taf. II, Fig. 4) unterscheidet sich äußerlich kaum von der bekannten, durch P. ericae-scopariae Duf. erzeugten Deformation. Der Unterschied zwischen beiden besteht darin, daß bei ericae-scopariae jede Larve in einer deformierten Blüte liegt, während bei Broteri jede Larve in einer kleinen Knospengalle liegt. Die Deformation erreicht eine Länge von 15 mm und eine Breite von 9 mm. Erscheint im Juni; Imago im August oder September. Auf Erica ciliaris L.

3) Perrisia Zimmermanni n. sp. (p. 60—61). Bewirkt Cecidien, welche mit denen von Myricomyia mediterranea (Fr. Löw.) große Aehnlichkeit

haben. Dieselben bestehen aus einer Deformation der Triebspitze, deren Blätter ihre Gestalt verändern und sich gegenseitig decken, zuerst grün, später aber rötlich erscheinen; die drei äußeren Blätter sind 5 mm lang, 2 mm breit und endigen in eine Spitze; die inneren sind dagegen stumpf und viel kleiner und umschließen die einzeln lebende Larve. Imago im April und Mai des 2. Jahres. Auf Erica arborea L. mit den Gallen von Myricomyia mediterranea (Fr. Löw).

4) Janetiella Martinsi n. sp. (p. 63—65). Verbildung der Axillarknospen; dieselben erscheinen eiförmig, 3—4 mm hoch und 2,5—3 mm breit, zuerst grün, dann rötlich und bestehen aus schuppenförmigen Blättchen, welche fleischig verdickt sind und fast der ganzen Länge nach miteinander verwachsen sind; Larvenkammer einzeln (Taf. I, Fig. 7 u. 7A). Erscheint im Herbst. Verwandlung in der Erde. Imago im April. Auf Genista lusitanica L. (Irrtümlich als Retama sphaerocarpa Bess bezeichnet.)

5) Janetiella maculata n. sp. (p. 65—66). Bewirkt eine Axillarknospengalle (Taf. I, Fig. 7—7A), welche mehr oder weniger eirund, grün oder rötlich gefärbt erscheint, und aus unentwickelten, behaarten, fleischig verdickten Blättchen besteht; sie wird 3—4 mm lang und 2,5—3 mm dick. Die rote Larve lebt einzeln in einer centralen Kammer und erleidet ihre Verwandlung in der Erde. Imago im Mai des 2. Jahres. Auf Cytisus albus Lk.

6) Oligotrophus origani n. sp. (p. 66—67). Erzeugt eine Deformation der Axillarknospen (Taf. I, Fig. 5), welche aus vergrößerten, außen abnorm behaarten, grünen, sich deckenden Blättern bestehen und eine mehr oder weniger eiförmige Gestalt zeigen, indem sie eine Länge von 13—15 mm erreichen und eine Breite von 10 mm. Die roten Larven leben in Mehrzahl zwischen den deformierten Blättchen und verwandeln sich daselbst in einem weißen Cocon. Von Februar bis Herbst. Nach dem Ausfliegen der Imago entwickeln sich die befallenen Knospen weiter, die Triebe gelangen aber nicht zur normalen Entwickelung. Auf Origanum virens Lk.

7) Asphondylia pterosparti n. sp. (p. 69—70). Die spitz eiförmige Galle, welche von dieser Mücke hervorgerufen wird, unterscheidet sich von der bekannten A. sarothamni H. LW.-Galle nur durch die dichte, weiße Behaarung, mit der sie überzogen ist. Knospen- und Blütengalle. Erscheint im Februar, Imago im April. Auf Pterospartum cantabricum Spach.

8) Contarinia cocciferae n. sp. (p. 72—74). Deformation der Axillar- und Terminalknospen, die eine Länge von 7—18 mm und eine Breite von 4 bis 14 mm erreichen und aus zahlreichen, dichtgedrängten, grünen, schuppenartigen Blättern bestehen; letztere umgeben mehrere Innengallen, deren jede aus zahlreichen, kleineren, bräunlichen Schuppen zusammengesetzt ist und eine weiße Larve enthält. Metamorphose in der Erde. Imago im Mai des 2. Jahres. Auf Quercus coccifera var. vera und var. imbricata, sowie auf Q. Ilex var. genuina P. Cout.

9) Agromyza Kiefferi n. sp. (p. 75—76). Bewirkt spindelförmig einseitige und einkammerige Zweigschwellungen, welche 15 mm lang und 4 mm breit werden, während der normale Zweig nur 2 mm dick ist. Erscheint im Herbst; Imago im Juni oder Juli des folgenden Jahres. Auf Cytisus albus Lk. (Taf. II, Fig. 11).

10) Trypeta Luiseri n. sp. (p. 77—78). Die Galle besteht aus einer eiförmigen, einkammerigen, 3 mm langen und 2 mm breiten, außen stark behaarten Schwellung einer Zweigspitze. Von April bis Oktober. Auf Phagnalon saxatile Cass. (Taf. I, Fig. 1).

11) Carphotricha Andrieuxi n. sp. (p. 78—79). Erzeugt spindelförmige, einseitige, dickwandige und einkammerige Zweigschwellungen, deren Länge 10 mm und die Breite 6—8 mm erreicht, während der normale Zweig nur eine Dicke von 2 mm zeigt. Metamorphose in der Galle. Imago im Mai. Auf Santolina rosmarinifolia L.

Aphdien-Galle.

Aphis suberis n. sp. (p. 83—84). Die geflügelte sowohl als die ungeflügelte Form lebt auf der Unterseite der Blätter, welche sich nach unten umbiegen und einrollen. Auf Quercus Suber var. genuina, sowie Q. pedunculata.

2. Neue Cecidien, deren Erzeuger nicht gezogen wurde.

Hier werden 5 von Cynipiden, 11 von Dipteren, eine von einem Käfer und 2 von Lepidopteren erzeugt.

Cynipiden-Gallen.

1) Staubblattgalle (p. 104). Staubfaden in eine ellipsoidale, an beiden Enden stumpfe, unbehaarte, 2,25 mm lange und 1,5 mm breite Galle umwandelt; die Staubbeutelhälften beiderseits in der Gestalt einer Längsfurche sichtbar. Auf Quercus Suber var. genuina.

2) Blattgalle (p. 38). Diese zierliche Galle ist spindelförmig, an beiden Enden in eine gerade oder gebogene, schnabelartige Spitze ausgezogen, 4 mm lang und 1—1,5 mm dick, einkammerig und durch einen in ihrer Mitte befindlichen Nabel an der Unterseite einer Neben-, seltener einer Hauptrippe befestigt; ihre längere Achse ist somit der Blattfläche parallel. Ihre Oberfläche ist weißlich, oberseits lang, aber spärlich behaart, in der Mitte mit einem Höcker, von welchem unregelmäßige Runzeln radial verlaufen; unterseits fast kahl und ebenfalls vom Nabelpunkt aus mit radiären Runzeln. Erscheint im September. Auf Quercus toza (Taf. I, Fig. 3). [Aus Versehen wurde diese Galle dem Andricus Nobrei zugeschrieben. Der Erzeuger derselben ist mir soeben zugesandt worden, er gehört zur Gattung Trigonaspis. Der Ref.]

3) Knospengalle (p. 104). Axillarknospe in eine einkammerige, eiförmige, dicht aber kurz behaarte, 3,5 mm lange und 2 mm dicke Galle umgewandelt.

4) Rindengalle (p. 104). Einkammerige, ellipsoidale, zuerst grüne, später braune, 2 mm lange und 1,5 mm breite Galle, welche ihrer ganzen Länge nach der Rinde eines jungen Zweiges, und zwar stets in der Nähe des Grundes, angewachsen ist. Kommt dieselbe einzeln oder zu zweien vor, so ist der Zweig zwar eingekrümmt, sonst aber normal entwickelt; kommen aber 4—6 oder darüber am Grunde eines Triebes vor, so bleibt letzterer verkümmert. Imago im April. Auf Quercus toza und pedunculata. [Ich habe aus einer Galle die Wespe herausgeschnitten; dieselbe gehört zur Gattung Andricus und wird nächstens von Tavares beschrieben werden.]

5) Zweiggalle (p. 104). Einseitige, fleischige Zweigschwellung; in dem ziemlich großen Innenraume liegt eine kleine Innengalle. Auf Quercus pedunculata.

Dipteren-Gallen.

1) Auf Asparagus aphyllus L. (p. 61—62). Dorn am Grunde verbreitert und fleischig verdickt, in der oberen Hälfte verkümmert; der Zweig selbst nimmt ebenfalls teil an der Verdickung. Larven weiß, zu mehreren in den Achseln der Dornen. Verwandlung in der Erde. [Der Erzeuger wurde mir soeben zugeschickt; er wird von Tavares mit dem Namen Perrisia asparagi belegt und beschrieben werden.]

2) Auf Cytisus albus Lk. (p. 100, Taf. II, Fig. 3). Einseitige, oder fast einseitige, grüne, behaarte Schwellung an jungen Trieben, eine Länge von 3,5 mm und eine Breite von 3 mm erreichend, während der normale Zweig nur 0,7 mm dick ist. Larve rot, einzeln; Verwandlung in der Erde; der Larve von Janetiella maculata ähnlich.

3) Auf Halimium heterophyllum Spack. (p. 101). Deformation einer End- oder Seitenknospe. Dieselbe besteht aus zwei aneinandergelegten, verwachsenen und nur am zugespitzten Ende freien Blättern, und erreicht eine Länge von 6 mm und eine Dicke von 2 mm. Verwandlung im Cecidium. Erzeuger wahrscheinlich eine Gallmücke.

4) Auf Halimium libanotis L. (p. 61). Ebenfalls eine Knospendeformation, welche aus schuppenartigen, grün und rot gefärbten aber unbehaarten Blättern besteht. Sie erreicht eine Länge von 4 mm und eine Breite von 2 mm und enthält 1 oder 2 Larven einer Perrisia-Art.

5) Pulicaria odora Rchb. (p. 102). Kuglige, dicht weiß behaarte, fleischige und hirsekorngroße Cecidien, einzeln und dann einkammerig, oder zu mehreren verwachsen und dann mehrkammerig, am Grunde und auf der Fläche der Blätter, sowie am Stengel und an den Blüten. Erzeuger eine Cecidomyide.

6) Rosmarinus officinalis L. (p. 61). Blüten verdickt und geschlossen bleibend. Larven rot, in Mehrzahl. Verwandlung in der Erde. Perrisia sp.?

7) Ornithopus sp.? (p. 69). Hülsenschwellung. Asphondylia sp.?

8) Quercus Ilex var. genuina P. Cout. (p. 103). Walzenförmige, strohgelbe, 2 mm lange und 1 mm breite Galle auf der Ober-, selten Unterfläche der Blätter, von einer kreisförmigen, 2—3 mm im Durchmesser haltenden verfärbten Stelle umgeben. Gallmückenlarve einzeln; Verwandlung in der Erde.

9) Santolina rosmarinifolia L. var. vulgaris Bess. (p. 105). Axillarknospe in eine 6 mm lange, einkammerige, weiß und lang behaarte, keglige oder walzenförmige oder unregelmäßig gestaltete Galle umwandelt; Wandung halbholzig. Gallmückengalle.

10) Santolina rosmarinifolia var. vulgaris (p. 105). Blattgalle: keglige, einkammerige, 4 mm lange und 1,5 mm breite, dicht behaarte Galle auf der Oberseite der Blätter. Erzeuger eine Gallmücke.

11) Sarothamnus patens Webb. (p. 105). Zweigschwellung, 9 mm lang und 2 mm dick, während der normale Zweig nur eine Dicke von 1 mm erreicht; mit centraler Larvenkammer.

12) Thymus villosus L. (p. 106). Terminalknospe deformiert, aus 3—6 schuppenförmigen Blättern bestehend, deren äußere grün, lang und schmal, die inneren aber gelblichgrün und eingekrümmt sind, eine rote Larve einschließend. Cecidium 4—5 mm lang und 2—3 mm dick. Cecidomyidengalle.

Coleopterocecidium? Auf Halimium heterophyllum Spack. Eiförmige und wenig hervorragende Zweigschwellung; Länge 4 mm, Dicke 2,5—3 mm, während der normale Zweig 2 mm erreicht; Larvenkammer in der Markschicht.

Lepidopterocecidien.

1) Auf Pterocephalus Broussoneti Coult. Spindelförmige Blattstielschwellung. Erzeuger ist vielleicht Alucita grammodactyla Zell.

2) Auf Silene portensis L. und gallica L. Längliche oder spindelförmige Stengelschwellung, wie die bekannte an S. nutans. Gelechia cauliginella Schr. wird als Erzeuger vermutet.

Auf Olea europaea L. (p. 102) wurde eine knotenförmige Zweiggalle beobachtet. Dieselbe ist aber nichts anderes als das längst bekannte Mycocecidium. [Der Ref.]

3. Cecidien, die wenigstens dem Substrate nach neu sind und deren Erzeuger schon bekannt war.

Cynipidengallen.

1) Aulax hypochoeridis Kieff.? auf Hypochoeris glabra L. (p. 22).

2) Andricus ostreus Gir. auf Quercus lusitanica var. Broteri P. Cout. und Q. humilis var. prasina Bosc. (p. 27).

3) A. ramuli var. trifasciata Kieff. auf Q. lusitanica var. faginea und var. Broteri, sowie auf Q. humilis var. prasina (p. 28).

4) A. gemmatus Adl. auf Q. lusitanica var. faginea (p. 30).

5) A. trilineatus Hart. auf Q. humilis var. prasina (p. 30).

6) A. Giraudi Wachtl. auf Q. humilis var. prasina (p. 30).

7) A. Malpighii Adl. auf Q. toza Bosc. (p. 30).

8) A. curvator Hart. auf Q. lusitanica var. Broteri und Q. toza (p. 31).

9) A. globuli Hart. auf Q. lusitanica var. Broteri (p. 32).

10) A. fecundator L. auf demselben Substrat (p. 32).

11) A. Kirchsbergi Wachtl. auf Q. lusitanica var. faginea.

12) A. Panteli Kieff. auf Q. lusitanica var. Broteri, Q. toza und Q. humilis var. prasina (p. 33).

13) A. solitarius Fonsc. auf Q. lusitanica var. Broteri (p. 33).

14) A. radicis Fabr. auf Q. lusitanica var. Broteri und var. faginea (p. 34).

15) A. superfetationis Pasz. auf Q. lusitanica var. Broteri (p. 34).

16) A. Sieboldi Hart. auf Q. lusitanica var. faginea (p. 34).

17) A. rhizomae Hart. auf Q. toza und Q. lusitanica var. faginea (p. 35).

18) Cynips coriaria Haimh. auf Q. lusitanica var. faginea und var. Broteri, sowie Q. pedunculata (p. 40).

19) C. c. var. lusitanica Kieff. auf Q. lusitanica var. Broteri (p. 40).

20) C. tozae Bosc. (argentea Hart.) auf Q. lusitanica var. Broteri (p. 40).

21) C. Kollari Hart. auf Q. humilis var. prasina (p. 41).

22) C. K. var. minor Kieff. auf Q. humilis var. prasina, Q. lusitanica var. Broteri (p. 42).
23) Trigonaspis synaspis Hart. auf Q. humilis var. prasina (p. 44).
24) Biorrhiza pallida Ol. (terminalis Fabr.) auf Q. lusitanica var. Broteri (p. 46).
25) B. aptera Bosc. auf Q. toza (p. 47).
26) Neuroterus tricolor Hart. auf Q. humilis var. prasina und Q. lusitanica var. faginea (p. 50).
27) N. baccarum L. auf Q. humilis var. prasina und Q. lusitanica var. Broteri (p. 50).
28) N. glandiformis Gir. auf Q. Suber var. genuina? (p. 51).
29) N. vesicator Schl. auf Q. toza (p. 51).
30) N. fumipennis Hart. auf Q. lusitanica var. faginea und var. Broteri, Q. humilis var. prasina und Q. toza (p. 51).
31) N. numismatis Ol. auf Q. lusitanica var. faginea und var. Broteri (p. 52).
32) N. saltans Gir.? auf Q. pedunculata (p. 52).

Dipterocecidien.
1) Perrisia asperulae Fr. Lw. auf Asperula aristata L. und Crucianella angustifolia L. (p. 54).
2) P. hyperici Br. (?) auf Hypericum undulatum Sch. (p. 54).
3) P. ericina Fr. Lw. auf Erica aragonensis Wk. und stricta Don. (p. 55).
4) P. acrophila Winn. auf Fraxinus angustifolia Vahl. (p. 55).
5) Dryomyia cocciferae March. auf Q. Suber var. brevisquamma P. Cout. und Q. cocciferae var. vera und var. imbricata (p. 56).
6) Rhopalomyia millefolii H. Lw. auf Achillea ageratum L. (p. 63).
7) Janetiella thymicola Kieff. auf Thymus mastichina L. (p. 63).
8) J. tuberculi Rbs. auf Sarothamnus patens Webb. (p. 63).
9) Asphondylia sarothamni H. Lw. auf Sarothamnus grandiflorus Webb. (p. 69).
10) A. pilosa Kieff.? auf Cytisus albus Lk. (p. 68).
11) A. ononidis Fr. Lw. auf Ononis hispanica L. (p. 68).
12) Braueriella phyllireae Fr. Lw. auf Phyllirea angustifolia L. (p. 71).
13) Contarinia ilicis Kieff. auf Q. Ilex var. avellanaeformis Colm. (p. 71).
14) Urellia mamula Frauenf. auf Helichrysum stoechas DC. (p. 76).

Coleopterocecidien.
1) Mecinus collaris Germ. auf Plantago coronopus L. (p. 93).
2) M. dorsalis Aubé auf Linaria Tournefortii Poir. var. glabrescens Lge. in seichten, spindelförmigen Zweigschwellungen.
3) und 4) Gymnetron antirrhini Payk und linariae Pang. auf Linaria Tournefortii Poir. var. glabrescens Lge. (p. 93).
5) Apion scutellare Kirb. auf Ulex spartioides Webb.? (p. 94).
6) A. cyanescens Gyll. auf Cystus monspeliensis L. und ladaniferus L. (p. 96).
7) A. gracilicorne Gyll. (irrtümlich als graciticolle bezeichnet). Aus spindelförmigen Zweigschwellungen von Lathyrus cicera L. (p. 96).
8) Ceuthorrhynchus sulcicollis Schönh. auf Erucastrum Pollichii Sperm. (p. 97).

Lepidopterocecidien.
1) Stagmatophora serratella Tr. Längliche Stengelschwellungen auf Anarrhinum bellidifolium L. (p. 98).
2) Heliozela stanneella Fr.? auf Quercus lusitanica var. Broteri (p. 98).

Phytoptocecidium. Phytoptus genistae Nal. auf Sarothamnus patens und grandiflora, sowie auf Cytisus albus (p. 90).

Kieffer (Bitsch).

Reh, L., Die San José-Schildlaus in Japan. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XII. 1902. p. 101.)

Die Frage nach der Heimat der San José-Schildlaus ist bekanntlich heute noch nicht endgiltig entschieden, doch werden immer mehr Stimmen laut, die für Japan sprechen. Eine neue Beobachtung hat nun der Japaner Sasaki gemacht, welcher nach seinen Untersuchungen schließt, daß die in Japan vorkommende Laus eine andere Art als die amerikanische, oder vielleicht eher eine Varietät derselben darstelle. Verf. schließt sich dieser Ansicht nicht an und scheint ihm die Schlußfolgerung Sasaki's — Japan wäre nicht die Heimat der San José-Laus — jeder biologischen Begründung zu entbehren. Sasaki kennt nicht die sorgfältigen Untersuchungen und Abbildungen Meerwarth's, welcher 18 Abbildungen von Läusen amerikanischer und 3 von solchen japanischer Herkunft gegeben hat, ohne jedoch einen Unterschied zwischen diesen zu erwähnen. Ein wesentlicher Unterschied in den Abbildungen Meerwarth's und Sasaki's besteht darin, daß letzterer im ersten Seiteneinschnitte nur eine Platte abbildet, während M. deren zwei zeichnet. Verf. konnte bei seinen zahlreichen Präparaten japanischer José-Läuse nur ein Exemplar finden, bei welchem nicht bestimmt zu entscheiden ist, ob hier eine oder zwei Platten stehen, sonst sind immer sehr deutlich zwei zu erkennen. Die weiteren Unterschiede, die Sasaki angiebt, sind entweder geringfügiger Natur oder aber entspringen der ungenauen Beobachtung und der Art der Präparation der amerikanischen Forscher, so daß nach wie vor kein Zweifel darüber entsteht, daß die japanische und die amerikanische San José-Schildlaus ein und dieselbe Art sind und nicht einmal als Varietäten getrennt werden können. Nach der Mitteilung von Shinkai Kuwana ist die José-Laus in Japan den Obstzüchtern schon seit mehr als 30 Jahren bekannt. Sasaki spricht von einer geringen Schädlichkeit des Tieres, während Shinkai Kuwana von einer energischen Bekämpfung und von einer Landplage spricht. Beide Autoren betonen aber, daß die San José-Laus überall in Japan, hoch im Innern und an der flachen Küste verbreitet ist.

Immerhin bleibt aber die Frage nach der Heimat des Schädlings auch jetzt noch unentschieden, und es ist vielleicht die Ansicht der meisten japanischen Entomologen, daß die San José-Laus aus China stamme, richtig. Verf. erwähnt ferner die Arbeit von Lowe und Parrot, aus welcher entnommen wird, daß die Larven der San José-Schildlaus eine Temperatur von 7,2° C 6 Wochen lang aushalten konnten, allerdings ohne sich weiter zu entwickeln. Auch die reifen Weibchen können diese niedrige Temperatur einige Zeit aushalten und gebären, wenn sie später in höhere Temperaturen gebracht werden, Junge. Schon bei einer Dauertemperatur von 14,4° C entwickeln sich die Weibchen völlig normal bis zur Geschlechtsreife. Da ihre Fortpflanzung auch in Europa anfangs Juli stattfinden würde, so hat man sicher kein Recht mehr, anzunehmen, daß der Schädling bei uns keine ihm zusagende Temperatur finden

würde, um so mehr, als er in den hochgelegenen Teilen des inneren Japans ebenso wie in den Gebirgen Nordamerikas vorkommt.

In einem Nachtrage berichtet Verf. über den kürzlich erschienenen ausführlichen Bericht Kuwana's, welcher die San José-Schildlaus überall in Japan (mit Ausnahme einer Insel und der hochgelegenen Teile des Innern) in Gartenanlagen, besonders zahlreich in den Gärten der landwirtschaftlichen Versuchsstationen und zum Teil an ganz alten Bäumen und in großen Mengen gefunden hat. Kuwana hat die Laus an 45—50 Jahre alten einheimischen Bäumen gefunden, nicht aber in einer großen Obstplantage, deren Bäume alle vor 50 Jahre aus Nordamerika bezogen wurden. Es scheint daher der Schluß gerechtfertigt, den Kellogg in der Vorrede zu Kuwana's Arbeit ausspricht, daß Japan sicherlich die Heimat der San José-Laus sei (womit die früher hervorgehobene Ansicht der japanischen Entomologen im Einklang zu bringen ist. Der Ref.). Ebenso ist sein fernerer Schluß berechtigt, daß die japanische Laus zweifellos die echte Aspid. perniciosus ist, denn die Variationen, die Kuwana anführt, betreffen nach seiner eigenen Angabe nur die eine Seite des Hinterrandes. Kuwana führt ferner als weitere Nährpflanzen Psilea pumila an und erwähnt bei den natürlichen Feinden nichts von der Mottenraupe, dagegen aber einen Käfer, nämlich einen Nitiduliden (Cybocephalus sp.). Stift (Wien).

Menegaux, A., Sur la biologie de la galérucque de l'orme. (Comptes rendus de l'Acad. d. Sc. Paris. T. CXXXIII. 1901. p. 459.)

Galleruca (Chrysomela) xanthomelaena L. läßt sich auf verschiedenen Varietäten von Ulmus campestris beobachten, nur var. belgica wird minder stark in Angriff genommen. Platanera (Zelkowa) crenata, die sich auf Ulme pfropfen läßt, wird nicht angegriffen.

Die Larven verzehren das Blattgewebe, ein Rest der oberen Epidermis bleibt stehen. Die Verpuppung erfolgt im Winter. Die Imago bleibt bis zum November sichtbar. Verf. nimmt an, daß nur die Imagines überwintern. Küster (Halle a. S.).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Bacteriology (Catechism Series). gr. 8°. 96 p. Edinburgh (E. & S. Livingstone) 1902. 1 sh.

Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Nebst mikrophotograph. Atlas, zusammengestellt v. E. Zettnow hrsg. v. W. Kolle und A. Wassermann. Mit 1 Atlas

photograph. Taf. nach Orig.-Aufnahmen. 3. Lfg. p. 353—528 m. Abbildgn. gr. 8°. Jena (Gustav Fischer) 1902. 4 M.

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, umfassend Bakterien, Pilze und Protozoën. Bearb. u. herausg. von P. v. Baumgarten u. F. Tangl. 16. Jahrg. 1900. 2. Abt. XII. u. p. 401—812. gr. 8°. Leipzig (S. Hirzel) 1902. 12 M.

Pfeiffer, E., Ueber einige wichtige Ergebnisse der bakteriologischen Forschung des Jahres 1901 und deren Nutzanwendung für die öffentliche Gesundheitspflege. (Ztschr. f. Medizinalbeamte. 1901. No. 8. p. 257—272.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Aloy, J. et **Bardier, E.**, Action physiologique des métaux alcalino-terreux et du magnésium sur la marche de la fermentation lactique. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 24. p. 848—849.)

— —, Les métaux alcalino-terreux et du magnésium exercent-ils une action favorisante sur la fermentation lactique? (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 24. p. 849—850.)

Ariola, V., Contributo per una monografia dei Didymozoon. I Didymozoon parassiti del tonno. (Arch. de parasitol. T. VI. 1902. No. 1. p. 99—108.)

Arthus, M., Sur la monobutyrinase du sang. (Journ. de physiol. et de pathol. génér. T. IV. 1902. No. 3. p. 455—461.)

Beijerinck, M. W., Expériences relatives à l'accumulation des bactéries de l'urée. Décomposition de l'urée par l'uréase et par catabolisme. (Arch. néerland. d. scienc. exact. natur. T. II. 1902. No. 7. p. 28—63.)

Carnevali, A., Contributo allo studio del gruppo „oidii". (Annali d'igiene sperim. Vol. XII. 1902. fasc. 3. p. 438—451.)

Caullery, M. et **Mesnil, F.**, Sur les Fecampia Giard, Turbellariés endoparasites. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 16. p. 911—913.)

Clerc, W., Contribution à l'étude de la faune helminthologique de l'Oural. (Zoolog. Anzeig. 1902. No. 678. p. 569—575.)

Darr, A., Ueber zwei Fasciolidengattungen. (Ztschr. f. wissensch. Zool. Bd. LXXI. 1902. Heft 4. p. 644—701.)

Gran, H. H., Studien über Meeresbakterien. I. Reduktion von Nitraten und Nitriten. (Bergens Mus. aarbog. 1901. No. 10. 23 p.) — II. Ueber die Hydrolyse des Agar-Agars durch ein neues Enzym, die Gelase. (Ibid. 1902. No. 2. 16 p.)

Laveran, A., Sur des culicides du Cambodge. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 25. p. 906—908.)

Looss, A., Zur Kenntnis der Trematodenfauna des Triester Hafens. II. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 2. p. 115—122.)

Lühe, M., Urogonoporus armatus ein eigentümlicher Cestode aus Acanthias, mit anschließenden Bemerkungen über die sogenannten Cestodarier. (Arch. de parasitol. T. V. 1902. No. 2. p. 209—250.)

Magnus, P., Ueber eine neue Art der Gattung Urophlyctis. (Verhandl. d. Ges. dtsch. Naturforscher u. Aerzte zu Hamburg 1901. T. 2. Hälfte 1. Leipzig (F. C. W. Vogel) 1902. p. 253—254.)

Neumann, G., Deux nouvelles pédiculines. (Arch. de parasitol. T. V. 1902. No. 4. p. 600—601.) — Note rectificative. (Ibid. T. VI. No. 1. p. 144.)

Ozzard, A. T., Description of a female parental form of the Filaria Demarquayi. (Brit. Guiana med. annual for 1902. p. 82.)

Prowazek, S., Protozoenstudien. III. Euplotes harpa. (Arb. a. d. zoolog. Instit. in Wien. 1902. Heft 1. p. 82—88.)

Rabenhorst's, L., Kryptogamen-Flora von Deutschland, Oesterreich und der Schweiz. 2. Aufl. Bd. I. 7. Abt. Pilze. 85. Lfg. Fungi imperfecti. Bearb. v. Andr. Allescher. p. 641—704. M. Abbildgn. gr. 8°. Leipzig (Eduard Kummer) 1902. 2,40 M.

Stossich, M., Sopra alcuni nematodi della collezione elmintologica del prof. dott. Corrado Parona. (Atti d. soc. ligust. d. sc. nat. e geogr. Vol. XIII. 1902. fasc. 2.)

Williamson, E. B., A few mycological notes for July and August 1900, Wells and Whitley Counties. (Proceed. of the Indiana Acad. of scienc. 1900. 1901. p. 161—165.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

Hiltner, L., Ueber neuere Ergebnisse auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie. Vortrag. 19 p. gr. 8°. Dresden (Schönfeld) 1902. 0,60 M.

King, F. H. and **Whitson, A. R.**, Development and distribution of nitrates in cultivated soils. 2. paper. (Univers. of Wisconsin agricult. experim. stat. Bullet. No. 93.) 39 p. 8°. Madison 1902.

Luft und Wasser.

Schüder und **Proskauer**, Versuche mit dem fahrbaren Trinkwasserbereiter von Rietschel und Henneberg. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XL. 1902. Heft 3. p. 627—640.)

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Kuschel, Ueber die Wirkung des Einlegens von Fleisch in verschiedene Salze. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIII. 1902. Heft 2. p. 134—150.)

Schneidemühl, Geo., Die animalischen Nahrungsmittel. Ein Handbuch zu ihrer Untersuchung und Beurteilung für Tierärzte, Aerzte, Sanitätsbeamte, Richter und Nahrungsmittel-Untersuchungsämter. Mit 224 Abbildgn. u. 1 farb. Taf. 5. (Schluß-) Abtlg. XVI u. p. 769—1011. gr. 8°. Wien (Urban & Schwarzenberg) 1902. 6 M.

Vignon, G., Contribution à l'étude des intoxications alimentaires produites par les poissons. [Thèse.] Paris 1902.

Milch, Molkerei.

Richter, A. P. F., Bakterielles Verhalten der Milch bei Boraxzusatz. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIII. 1902. Heft 2. p. 151—156.)

Vieth, Die Behandlung der Milch mit Rücksicht auf die Seuchentilgung. (Landwirtsch. Centralbl. Organ d. Landwirtschaftskammer f. d. Provinz Posen. 1902. No. 15. p. 121—123.)

Vieth, P., Die Anwendung niedriger Wärmegrade in der Milchwirtschaft. (Hannov. land- und forstwirtsch. Ztg. 1902. No. 28. p. 498—501.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Chittenden, F. H., Some insects injurious to vegetable crops. A series of articles dealing with insects of this class. (U. St. Departm. of agricult. Divis. of entomol. N. S. Bullet. No. 33. 117 p.) 8°. Washington 1902.

Darboux, G., Sur quelques coléoptérocécidies du Languedoc. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1902. p. 178—179.)

Laborde, J., Sur la destruction des papillons de Cochylis par les lanternes-pièges. (Rev. de viticult. 1902. No. 452. p. 173—178.)

Marchal, E., De la spécialisation du parasitisme chez l'Erysiphe graminis. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 3. p. 210—212.)

Moritz, J., Versuche, betreffend die Wirkung insekten- und pilztötender Mittel auf das Gedeihen damit behandelter Pflanzen. (Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. a. Kais. Gesundh.-A. Bd. III. 1902. Heft 2. p. 103—129.)

Piper, C. V., Orchard enemies in the Pacific Northwest. U. St. Departm. of Agricult. Farmers' bullet. No. 153. 39 p. 8°. Washington 1902.

Staes, G., Over het verdelgen van akkeronkruid door besproeiingen. (Tijdschr. over plantenziekt. Aflev. 3. 1902. p. 108—115.)

Weber, E. A., Die Bekämpfung des Unkrautes. 1. Stück. Der Duwock (Equisetum palustre). Mit 3 Taf. 63 p. (Arb. d. deutsch. Landwirtsch.-Ges. Hrsg. vom Direktorium. 72. Heft.) gr. 8°. Berlin (Paul Parey) 1902. 2 M.

Weiss, Das Versuchswesen auf dem Gebiete des Pflanzenschutzes. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1902. Heft 7. p. 49—53.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. **Jena**, den 10. November 1902. **No. 17/18.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark. Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Wünsche wegen Lieferung von besonderen Abdrücken wollen die Herren Mitarbeiter auf die Manuskripte schreiben oder bei Rücksendung der ersten Korrekturabzüge der Verlagsbuchhandlung mitteilen.

Original-Mitteilungen.

Ueber ein in den Hefezellen vorkommendes labartiges Enzym.

Von Oberapotheker Dr. **R. Rapp**, München.

Die Milch kann, ohne daß sich stärkere Säuerung einstellt, oder ohne daß Kälberlabzusatz erfolgt, gerinnen. Diese Beobachtung wurde schon im Jahre 1852 von Heubner gemacht und hierüber im Jahre 1882 von Duclaux die erste Erklärung gegeben. Nach Duclaux entsteht eine solche Caseïnfällung bei alkalischer Reaktion durch ein labartiges Enzym, das durch Bakterien-

thätigkeit ausgeschieden wird. Die Isolierung dieses Enzyms gelang erst Conn im Jahre 1892. Eine solche Eigenschaft, in Milch Caseïn abzuscheiden, ist vielen Species aus der Gruppe der sogenannten Kartoffelbacillen eigen. Besonders ergiebig an diesem Enzym ist nach den Untersuchungen von Gorini auch der Bacillus prodigiosus. Die Sproßpilzzellen sind, mit Ausnahme einer einzigen in der Litteratur verzeichneten Angabe[1]), auf eine solche Fähigkeit hin noch nicht eingehender untersucht worden.

Schon vor längerer Zeit konnte ich gelegentlich der Untersuchungen, die ich über Gärung ausführte, beobachten, daß auch in den Hefezellen ein labartiges Enzym vorhanden sein muß. Im folgenden soll eine Mitteilung über meine hierüber angestellten Untersuchungen gemacht werden.

Zu allen Versuchen wurden später näher zu beschreibende Hefenauszüge benützt. Die Proben wurden verkorkt zur Gerinnung gewöhnlich bei 41—42° C aufgestellt. Jedesmal erfolgte ein Zusatz von Chloroform, um eine Bakterienvermehrung zu verhindern. Die verwendete Milch wurde stets im kochenden Dampftopfe sterilisiert.

I. Enzymnachweis.

Daß in den Hefezellen wirklich ein labartiges Enzym enthalten ist, und daß nicht etwa die saure Reaktion die Gerinnung bewirkt, sollte zuerst durch folgenden Versuch festgestellt werden.

1 ccm Hefenauszug wurde 15 Minuteu lang im kochenden Dampftopfe erhitzt und dann mit 10 ccm Milch vermischt. Eine zweite nicht erhitzte Probe des Hefenauszuges diente als Kontrolle. Während nun die Kontrolle noch 4—5 Stunden geronnen war, trat eine Gerinnung bei dem erhitzten Hefenauszuge nicht ein.

II. Vergleich mit Kälberlab.

Ein Unterschied zwischen Kälberlab und Bakterienlab soll darin bestehen, daß ersteres gekochte (sterilisierte) Milch nicht, letzteres dagegen solche zur Gerinnung bringt.

Versuchs-No.		
1.	0,01 g trockenes Kälberlab (Firma Grübler) + 10 ccm sterilisierte Milch	nach 30 Minuten Gerinnung beginnend; jedoch nicht vollständig
2.	dito + 10 ccm frische Milch	nach 10 Minuten geronnen
3.	1 ccm Hefenauszug + 10 ccm sterilisierte Milch	nach 4—5 Stunden geronnen
4.	dito + 10 ccm frische Milch	nach 4—5 Stunden geronnen

Die Wirkung von Kälberlab war auf sterilisierte Milch viel schwächer als auf frische, ungekochte Milch. Hefenlab bringt frische, sowie gekochte Milch gleich schnell zur Gerinnung.

1) Bochicchio, Le stazioni sperim. agrar. ital. Vol. XXVI. 94. p. 568. Bei einer obergärigen Hefe beobachtet.

Ein Zusatz von Oxalatsalz zur Milch soll die Gerinnung durch Kälberlab verhindern; auf Zusatz von Kalksalzen jedoch soll die Gerinnung wieder eintreten.

5.	0,01 Kälberlab + 10 ccm frische Milch + 1 ccm 4-proz. Ammoniumoxalatlösung	es trat keine Gerinnung ein	Kontrolle war in 10 Minuten geronnen
6.	0,01 Kälberlab + 10 ccm frische Milch + 1 ccm 4-proz. Ammoniumoxalatlösung + 0,3 ccm $CaCl_2$-Lösung [1])	nach 10 Minuten Gerinnung	
7.	1 ccm Hefenauszug + 10 ccm Milch + 1 ccm 4-proz. Ammoniumoxalatlösung	nach 8 Stunden geronnen, aber weniger dickflüssig	Kontrolle nach 4 Stunden geronnen
8.	1 ccm Hefenauszug + 10 ccm Milch + 1 ccm 4-proz. Ammoniumoxalatlösung + 0,3 ccm $CaCl_2$-Lösung	nach 4 Stunden geronnen	

Auch hier zeigte sich also ein Unterschied zwischen Kälberlab und Hefenlab.

III. Einfluß der Reaktion auf die Gerinnung.

Alkalische Reaktion soll die Labgerinnung (Bruch) stören, ein Gehalt von 0,025 NaOH vernichtet bei 15—17° C nach 24 Stunden bereits das Enzym. Saure Reaktion beschleunigt die Abscheidung von Caseïn. Das Vorhandensein von mehr Säure fällt Caseïn bekanntlich aus (= Quark).

9.	1 ccm Hefenauszug + 10 ccm Milch + 0,5 ccm $^1/_{10}$ N NaOH	nach 4—5 Stunden geronnen, ebenso Kontrolle ohne Zusatz
10.	1 ccm Hefenauszug + 10 ccm Milch + 1 ccm $^1/_{10}$ N NaOH	
11.	1 ccm Hefenauszug + 10 ccm Milch + 2 ccm $^1/_{10}$ N NaOH	keine Gerinnung mehr
12.	1 ccm Hefenauszug + 10 ccm Milch + 1 ccm 1 Proz. Milchsäure	nach 4—5 Stunden geronnen
13.	1 ccm Hefenauszug + 10 ccm Milch + 1 ccm Wasser	

Bei stärkerer alkalischer Reaktion tritt auf Zusatz von Hefenauszug zur Milch keine Gerinnung mehr ein. Aehnlich wie Milchsäure wirkten Beigaben von Weinsäure, Citronensäure beschleunigend auf den Gerinnungsprozeß.

IV. Einfluß von einigen Salzen auf die Labgerinnung.

Zur Verwendung gelangten $CaCl_2$, NaCl, Na_2SO_4, $NaNO_3$ und Na_2HPO_4.

1) Ammoniumoxalat und Chlorcalciumlösung wurden in äquivalenten Mengen zugesetzt.

In je 10 ccm Milch + 1 ccm Hefenauszug wurden gelöst:

14.	0,1 g $CaCl_2$	schon nach 2 Stunden bei Zimmertemperatur Gerinnung
15.	1,0 „ NaCl	nach 4—5 Stunden Coagulum fest und sehr dick
16.	1,0 „ Na_2SO_4	nach 4—5 Stunden Coagulum fest und sehr dick
17.	1,0 „ $NaNO_3$	nach 4—5 Stunden Coagulum fest und sehr dick
18.	1,0 „ Na_2HPO_4	nur teilweise Gerinnung
	Kontrolle ohne Zusatz	nach 4—5 Stunden geronnen

Ein Zusatz von $CaCl_2$ beschleunigt auch hier die Gerinnung; die Gegenwart von Neutralsalzen ist bei diesem Gerinnungsvorgange nicht hinderlich; Na_2HPO_4-Zusatz stört infolge der alkalischen Reaktion die Koagulation.

V. Temperaturoptimum der Gerinnung.

Nach A. Mayer ist die günstigste Temperatur für die Gerinnung der Milch mit Kälberlab bei 37° C; bei 25° C ist die Dauer 3mal so lange. Ueber 45° C ist das Enzym unwirksam und bei 70° C wird es zerstörend.

Je 1 ccm eines Hefenauszuges + 10 ccm Milch

19.	bei 15—17° C	nach 5 Tagen Gerinnung
20.	„ 24° „	„ 10—12 Stunden Gerinnung
21.	„ 35° „	„ 4—5 „ „
22.	„ 41° „	„ 3 „ „
23.	„ 56° „	„ 30 Minuten „
24.	„ 74° „	„ 10 „ „
25.	in Milch von 80° „ eingetropft	„ 5 „ „

Mit steigender Temperatur erfolgt auch eine schnellere Gerinnung. Das Hefenlab ist nach diesen und den folgenden Versuchen zu der Gruppe der hitzebeständigen Enzyme zu rechnen.

VI. Einfluß von höheren Temperaturen.

Um den schädigenden Einfluß von höheren Temperaturen kennen zu lernen, wurde je 1 ccm Hefenauszug mit 2 ccm Wasser gemischt, bei x Temperatur y Stunden lang aufgestellt und dann mit 8 ccm Milch auf das Labvermögen geprüft.

26.	bei 50° C	1, 4, 6, 21, 45, 69 Std. lang aufgestellt	keine Verminderung des Labvermögens gegenüber der Kontrolle
27.	„ 55—57° C	1/2, 1, 2, 5 u. 25 Std. aufgestellt	keine Verminderung des Labvermögens gegenüber der Kontrolle
28.	„ 65—68° C	1/2, 1, 2, 5 u. 29 Std. lang aufgestellt	nach 1 Stunde schon Verminderung; nach 2 Stunden war das Enzym vernichtet.
	Kontrolle bei 40° C		nach 4—5 Stunden geronnen

VII. Ermittelung des Wirkungswertes eines Hefenauszuges.

29.	3 ccm Hefenauszug	+ 7 ccm Milch	Chloroformzusatz	Temperatur 40—41° C Gerinnung nach 10 Minuten
	2 „ „	+ 8 „ „		„ „ 20 „
	1 „ „	+ 9 „ „		„ „ 30 „
	0,5 „ „	+ 9,5 „ „		„ „ 80 „
	0,25 „ „	+ 10 „ „		„ „ 155 „
	0,1 „ „	+ 10 „ „		„ „ 5—6 „
	0,15 „ „	+ 10 „ „		„ über Nacht n. 12 Sdt.

Es ist zwischen Enzymmenge und Gerinnungszeit deutlich ein proportionales Verhältnis zu erkennen.

Die zu obigen Versuchen verwendeten Hefenauszüge wurden von einer untergärigen Bierhefe gewonnen, die einer Münchener Brauerei entstammte. Das Vermögen, in Milch Gerinnung hervorzubringen, kommt aber den verschiedensten Hefenstämmen zu. Bis jetzt wurde eine weitere Münchener und eine Badische Preßhefe und eine obergärige Hefe auf das Labvermögen hin geprüft und alle zeigten diese Eigenschaft. Das Enzym ist nicht dialysationsfähig. Der Versuch wurde unter Einhalten aller nötigen Vorsichtsmaßregeln bei Zimmertemperatur und bei 40° C angestellt. Dialysiert wurde gegen Wasser und gegen Milch; aber niemals konnte ein Dialysieren des Enzyms konstatiert werden, während die Enzymlösung nach dem Versuche noch Labvermögen besaß.

Das trockene labartige Hefenenzym scheint sehr hohe Erhitzungsgrade ertragen zu können. Bei 37° C getrocknete Hefe wurde bei 97° C 6 Stunden lang erhitzt und 5 g hiervon mit 5 g Glycerin und 15 g Wasser bei 50° C extrahiert. Das Filtrat zeigte Labvermögen. Getrocknete Hefe während 1 Stunde zwischen 100—120° C gehalten, gab nach der Extraktion mittels Glycerin und Wasser eine Lösung, die noch Milchgerinnung zeigte.

Bemerkenswert ist, das Antiseptica wohl hemmend, aber nicht zerstörend auf das Hefenlabenzym einzuwirken imstande sind, wie folgender Versuch zeigt.

In 1 ccm Hefenauszug + 10 ccm Milch wurden

30.	mit 1 ‰ Sublimat	Gerinnung
	„ 1 ‰ Quecksilberoxycyanid	„ nicht vollständig
	„ 3 % Karbolsäure versetzt	„

Darstellung von Hefenauszügen und von Hefenlabtrockenpräparaten.

Preßhefe wird zerkleinert, in Gefäße, die einen starken Druck auszuhalten vermögen, gebracht. Es erfolgt nun ein Zusatz von Chloroform oder Aether; eine Zugabe von Kochsalz und etwas Wasser ist angängig, aber nicht notwendig. Die so gefüllten und verschlossenen Gefäße werden in ein Wasserbad von 55° C 60—70 Minuten lang oder in ein Wasserbad von 50° C 12 Stunden lang

gestellt. Durch diese Temperaturen, sowie durch den Chloroform- oder Aetherdampf werden die Hefezellen schnell abgetötet und verflüssigt, die löslichen Inhaltsstoffe treten durch die Zellmembran aus. Nach dieser Zeit wird die Flüssigkeit filtriert, das Filtrat im Vakuum zu Sirupkonsistenz eingedampft und zum Zwecke der Konservierung mit 30 Proz. Rohrzucker oder Glycerin versetzt. Derartige mit Rohrzucker vermischte Hefenauszüge wurden zu allen vorhergehenden Versuchen verwendet. Selbstverständlich kann auch der Hefenpreßsaft von E. Buchner (s. Chem. Berichte. Jahrg. XXX. Heft 17. p. 2670) hierzu Verwendung finden und wird derselbe zu diesem Zwecke nur bei einer Temperatur von 55° C 1 Stunde lang erwärmt. Temperaturen von 50—55° C wurden gewählt, um die überflüssigen, gerinnbaren Eiweißkörper nach der Gerinnung durch Filtration entfernen zu können, ferner um die proteolytischen Enzyme durch diese Temperaturen zu zerstören. Uebrigens scheint das proteolytische Enzym nur wenig auf das Hefenlabenzym einwirken zu können, da ein seit 6 Monaten bei 37° C aufgestellter Hefenpreßsaft noch gut Milchgerinnung hervorzurufen vermag.

Es läßt sich auch bei 37° getrocknete Hefe, eventuell höher erhitzte Hefe zur Darstellung von Hefenauszügen mit Vorteil verwenden.

Behufs Gewinnung von Trockenpräparaten muß der Hefenauszug zuerst dialysiert werden, um die Salze zu entfernen. Erst dann kann die Flüssigkeit im Vacuumapparate eingedickt und schließlich auf Glasplatten zur Trockene gebracht werden.

Ferner wurde versucht, Hefenauszüge mit Alkohol zu fällen und den Niederschlag zu trocknen. Das erhaltene Pulver, in Milch gelöst, erzeugte nach kurzer Zeit Gerinnung. Durch Fällen mit Bleiessig kann schließlich auch ein wirksames Präparat erhalten werden.

Was die Art der Gerinnung betrifft, so ist dieselbe sehr feinflockig und daher der geronnenen Frauenmilch oder dem fertigen Kefir sehr ähnlich. Durch Erhitzen oder Sterilisieren wird die so behandelte Milch nicht grobflockig, wie dies bei Zusatz von Kälberlab z. B. in Erscheinung tritt.

Leider ist das Verfahren praktisch nicht zu verwerten, da die wirksame Substanz nur in geringer Menge vorhanden ist und ein Konzentrieren zu teuer kommen dürfte.

Ob in den Pflanzen solche labartige Enzyme häufiger verbreitet sind, ebenso welchem von den bereits bekannten Enzymen das Hefenlabenzym am ähnlichsten ist, soll der Stoff für spätere Untersuchungen sein.

Ueber ein neues Bakterium der „seifigen Milch“ (Bacterium sapolacticum).

Von Dr. phil. **Wilhelm Eichholz** (Kiel).

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen, Kiel. Vorsteher: Prof. Dr. Weigmann.]

Im Mai dieses Jahres wurde bei einer Milchprobe (Mischmilch aus der Versuchsmeierei des Instituts), welche zu Versuchszwecken einige Stunden im chemischen Laboratorium und über Nacht im Eisschrank bei 5—7° C gestanden hatte, am anderen Tage ein eigentümlich widerlich seifiger Geschmack beobachtet. Bei Zimmertemperatur wurde die Milch unter normalen Begleiterscheinungen sauer, dick und nach mehreren Tagen käsig, ohne irgend einen fremden Geschmack. Wegen anderer dringender Arbeiten konnte der Ursache dieser Erscheinung nicht nachgeforscht werden; erst nachdem die Milch käsig geworden war, wurde eine geringe Menge auf sterilisierte Milch geimpft und diese im Eisschrank aufbewahrt. Schon nach 24 Stunden schmeckte die Milch intensiv seifig.

Mit Hilfe des Plattenverfahrens gelang es, ein Bakterium zu isolieren, welches in steriler Milch denselben seifigen Geruch und Geschmack erzeugte, und mithin als Erreger des Milchfehlers anzusehen ist.

Das Bacterium sapolacticum, wie es zum Unterschiede von dem von Weigmann und Zirn beschriebenen Bacillus lactis saponacei[1]) heißen möge, ist ein kleines Stäbchen, von 0,87—1,4 μ Länge und 0,17—0,52 μ Breite, welches sich im jungen Zustande der Kokkengestalt nähert und häufig kurze Ketten bildet, die Anilinfarben etwas schwerer aufnimmt als die meisten anderen Bakterien, keine Sporen bildet und mittels 1—4 polarer Geißeln außerordentlich lebhaft beweglich ist.

Die Resistenzfähigkeit gegen Hitze ist äußerst gering. In 9 Tage alten, jedoch noch sehr keimkräftigen Bouillon- und Milchkulturen genügt eine 5 Minuten lange Erhitzung auf 60° oder eine 1-minutenlange auf 80°, dagegen noch nicht die Einwirkung von 75° während 1 Minute zur völligen Abtötung.

Das Temperaturoptimum für Agar-Agarstrichkulturen liegt zwischen 23° und 27°, bei $6\frac{1}{2}$°—$7\frac{1}{2}$° findet langsames, bei 36°—$37\frac{1}{2}$° gar kein Wachstum statt.

Gelatineplattenkulturen. 18°—22° C.

Die Tiefenkolonieen sind nach 3 Tagen klein, vollkommen kreisrund, bei 90-facher Vergrößerung erscheinen sie im Innern fein gekörnt, mit schwach konzentrischer, am Rande radialer Struktur.

Die Oberflächenkolonieen sind meist kreisförmige, zuweilen unregelmäßige aber scharf konturierte, flache, weißlich

1) Diese Zeitschrift Bd. XV. 1894. p. 463.

glänzende Auflagerungen, die nach 3 Tagen Stecknadelknopfgröße erreichen, aber auch im späteren Alter die Durchmessergröße von 3—4 mm nicht überschreiten. Die Gelatine fluoresciert, wird aber nicht verflüssigt.

Agar-Agarplattenkulturen. 27° C.

Junge Tiefenkolonieen meist wetzsteinförmig, seltener oval; später verbreiten sich dieselben zu horizontalen, schleierartigen, zarten Kreisen mit wetzsteinförmigem Centrum.

Die Oberflächenkolonieen sind kreisrunde, fettig glänzende, weißliche, ganzrandige Auflagerungen. Die Kolonieen, besonders die kreisförmigen Tiefenkolonieen, zeigen im durchfallenden Lichte schönen Perlmutterglanz. Im ganzen ist das Wachstum, abgesehen von der Fluorescens, coliartig.

Gelatinestrichkulturen. 17—21° C.

3 Tage alte Kultur bildet eine zarte, gelblichweiße, etwas klebrige, ziemlich fest auf dem Nährsubstrat haftende Auflagerung mit ausgefransten Rändern. Die Ränder sind wenig erhaben, so daß die Kultur einem schmalen, sehr flachen Schiffchen ähnlich sieht. Der Nährboden zeigt schöne Fluorescens, wird aber nicht verflüssigt.

Agar-Agarstrichkulturen. 17°—21° C.

Das Wachstum und die Fluorescenz ist viel intensiver als auf Gelatine. Die Kultur ist dick, schmierig und läßt sich leicht mit der Nadel vom Nährboden abnehmen. Der Rand ist scharf gezeichnet, jedoch unregelmäßig gebuchtet. Die Kultur reagiert deutlich alkalisch und riecht eigentümlich muffig, zwiebelähnlich.

Gelatinestichkulturen. 17°—21° C.

Nach 3 Tagen ganz flache Nagelkultur mit sehr spärlichem Tiefenwachstum. Das Nährsubstrat zeigt nur unmittelbar an der Oberfläche schwache Fluorescenz, die Oberflächenansiedelung ist unregelmäßig gebuchtet,

Kartoffelkulturen. 17°—21° C.

Nach 3 Tagen graubrauner, stumpfer Belag, dessen Breite auch im späteren Alter 4 mm nicht überschreitet.

Bouillonkulturen. 18°—22° C.

Die Bouillon wird getrübt, es bildet sich schleimiger Bodensatz, jedoch kein Häutchen; in höherem Alter zeigt die Flüssigkeit Fluorescenz. Auf Zusatz von Milch- bezw. Traubenzucker erfolgt keine Gärung.

Auf sterilisierter ungesalzener Butter, welche unter Umschütteln zur Erstarrung gebracht wurde, ist kein Wachstum zu beobachten. Wenn man jedoch der Butter vor dem Erkalten eine größere Menge Magermilch beimischt, erhält die Butter nach 3—4 Wochen einen talgigen und anisartigen Geruch und Geschmack.

Milchkulturen.

Auf Milch brachte das Bacterium sapolacticum einen

widerlich seifigen, süßen Geschmack hervor, der in mehrere Tage alten Kulturen, die zwischen 5° und 10° C aufbewahrt wurden, am stärksten war, jedoch auch schon bei Zimmertemperatur nach 24 Stunden auftrat. Nach einigen Tagen nahm die Milch einen unangenehmen Kuhgeruch an und wurde unter schwach gelbbrauner Verfärbung peptonisiert.

Zur Nachahmung der natürlichen Verhältnisse wurden ungefähr gleiche Mengen einer Milchsäurereinkultur, wie sie von der Station zur Ansäuerung des Rahmes versendet werden, mit Bacterium sapolacticum auf Milch geimpft, eine Kultur bei Zimmertemperatur, die andere bei 6°—8° aufgestellt. Die erstere war am anderen Tage geronnen und schmeckte rein und angenehm sauer, die zweite schmeckte gar nicht sauer, dagegen seifig. Hierin liegt die Gefährlichkeit, zugleich aber auch die Art der praktischen Beseitigung dieses Milchschädlings. Obgleich sein Temperaturoptimum bedeutend höher liegt, ist das Bakterium unter gewöhnlichen Verhältnissen, d. h. bei Gegenwart von Milchsäurebakterien, nur bei Temperaturen unter 10°, wo die Wirkung der Milchsäurebakterien ausgeschaltet ist, imstande, seinen schädigenden Einfluß auf Milch auszuüben. Der Milchfehler kann nur dann auftreten, wenn man versucht, die Milch durch niedere Temperaturen zu konservieren. In unserer Versuchsmeierei, in deren Milch der Schädling seiner Zeit ja in großen Mengen vorhanden war, ist er gar nicht zur Wirkung gekommen, einerseits, weil die Milch bald nach der Anlieferung pasteurisiert wurde und andererseits weil man die Rahmsäuerung bei einer für ihn zu hohen Temperatur vor sich gehen ließ.

Leider war der seiner Zeit von Weigmann und Zirn beschriebene Bacillus lactis saponacei[1]) in unserer Sammlung ausgestorben, so daß die Vergleichung mit dem neuen Bakterium nur an der Hand der Beschreibung erfolgen konnte. Jedoch boten sich in dem Aussehen der Kulturen, dem Mangel an Fluorescens des ersteren, sowie in dem für die Praxis sehr wichtigen Umstande, daß jener die Milch bei Zimmertemperatur unter Schleimbildung seifig macht und über etwa vorhandene Milchsäurebakterien die Oberhand zu gewinnen vermag, ausreichende Unterscheidungsmerkmale.

Versuche über die Verwesung pflanzlicher Stoffe.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Privatdocent Dr. **Oskar Bail**, Assistenten des Institutes[2]).

(Schluß.)

Nach 28 Tagen sind die Blätter in den mit α und $\alpha + \gamma$ geimpften Cylindern sichtlich nicht verändert, der Geruch ist in beiden

1) l. cit.

2) Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Litteratur in Böhmen.

säuerlich, die Reaktion intensiv sauer. In beiden Proben ist die Zahl der aufgehenden Kolonieen von α stark gesunken. In der mit α geimpften finden sich 400000, in der mit α und γ infizierten nur 250000 Kolonieen; γ ist nicht mehr aufzufinden. Der Cylinder α + Hefe enthält kaum veränderte Blätter, ohne besonderen Geruch; die Flüssigkeit ist trüb und reagiert sauer, wenngleich wesentlich schwächer, wie die von α oder $\alpha + \gamma$. Kulturell ergeben die Platten 140000 Hefen, 87000 α, daneben aber auch etwa 6000 Kolonieen eines großen, weißen Coccus. Die Probe Hefe + γ riecht stark „tabakartig“, die Blätter sind zum großen Teil abgesunken und bei Vermehrung trüber, schwach sauer reagierender Flüssigkeit, stark rarefiziert. Kulturell sind die Platten binnen 2 Tagen verflüssigt, doch läßt sich erkennen, daß Hefe noch in ansehnlicher Menge vorhanden sein muß. Die mit $\alpha + \gamma$ + Hefe geimpfte Probe stellt nur ein auf den Grund des Cylinders gesunkenes, ganz unkenntliches, dunkelgrünes bis fast schwarzes, schmieriges Häufchen dar, welches in einer dicht trüben, mit kleinen Gewebsfetzen erfüllten, deutlich alkalischen Flüssigkeit liegt. Der Geruch ist rein und stark „tabakartig“, ohne irgendwie modrig zu sein. Auf den Platten ist α gar nicht, Hefe nur in wenigen Kolonieen vorhanden. Doch beweist das nur beider starke Verminderung, da die ersten 3 Verdünnungen durch Verflüssigung unkenntlich geworden sind.

Der Versuch wird wegen der Verunreinigung im Cylinder α + Hefe wenige Tage danach bei gleichem Befunde abgebrochen.

Das Resultat dieses Endversuches ist bis auf einige Einzelheiten völlig eindeutig. Keiner der durch die vorhergehenden Untersuchungen als wesentlich angesehenen Mikroorganismen vermochte für sich allein das Bild der Verwesung hervorzubringen. Hefe und auch Bacillus α wuchsen zwar unter ansehnlicher CO_2-Bildung gut, veränderten aber kaum das Aussehen der Blätter; γ konnte sich allein gar nicht entwickeln und ebensowenig in Kombination mit α. Dementsprechend ist auch die CO_2-Produktion in beiden Cylindern fast die gleiche. Stärker als Hefe allein, vermag die Zusammenstellung α + Hefe das Substrat zu beeinflussen: die CO_2-Bildung ist hier entschieden intensiver. Aber von einer weitergehenden sichtlichen Veränderung der Blätter ist auch hier nicht die Rede. — Der Kombination Hefe + γ kann nicht mit der gleichen Sicherheit ein ursächlicher Zusammenhang mit dem typischen Bilde der Verwesung abgesprochen werden. Zwar die CO_2-Bildung weicht namentlich in der ersten Zeit durch ihre Schwäche davon ab und zeigt gewisse Schwankungen, die sonst nicht zu beobachten waren, die aber zu regelmäßig sind, um auf Zerfall beruhen zu können. Auch ist es nicht recht klar, warum die Hefe bei Anwesenheit von γ in den ersten Tagen weniger Kohlensäure bildet, als für sich allein. Aber die Geruchsveränderung, das Zusammensinken der Blätter, die Vermehrung der ausgeschiedenen Flüssigkeit, die Verminderung der Acidität wurde doch durch diese beiden Organismen hervorgebracht und es wäre nicht unmöglich, daß sich bei weiterer Fortsetzung des Versuches jenes typische

Endstadium hätte erreichen lassen, welches die Kombination der Bacillen α und γ und der Hefe hervorbrachte. Ein Vergleich des bakteriologischen Befundes mit dem früher bei Weiterimpfung natürlich verwesten Materiales ergiebt eine weitgehende Uebereinstimmung und auch die erhaltene Kohlensäuremenge entspricht ungefähr derjenigen, die bei Verwendung gleicher Materialmenge (s. Versuch Rh. Ib oben) auftrat.

Was die Ergebnisse der Analyse der Blattmassen nach Abbruch der Versuche betrifft, so soll darauf kein besonderes Gewicht gelegt werden, da einerseits die Feststellung der ursächlichen Mikrobienvegetation der Verwesung den Hauptzweck der Arbeit bildete, andererseits die in Verwendung genommenen Mengen viel zu klein waren, um eine genauere Analyse zuzulassen. (Wassergehalt rund 90 Proz. und darüber.)

Ueberdies war das Versuchsmaterial zu verschiedenen Zeiten und von verschiedenen Orten her bezogen und es war leider zum Teil unterlassen worden, jedesmal eine Analyse der nicht verwesten Blätter vorzunehmen. Wie bedeutungsvoll das aber ist, zeigten spätere Versuche, welche namentlich bezüglich des Stickstoffgehaltes Schwankungen von 4 Proz. der Trockensubstanz und darüber aufweisen. Verschiedenheit des Standortes, der Zeit der Entnahme der Blätter, nicht ganz gleichförmige Verteilung von Blattnerven und Blattspreiten u. dgl. können da von Bedeutung sein. Natürlich ist die Aufstellung einer aus mehreren Analysen abgeleiteten Mittelzahl nur ein notdürftiges Aushilfsmittel.

Bestimmt wurden: Rohasche, Rohfett (Aetherextrakt), Rohprotein (N-Gehalt × 6,25), Rohfaser (Weender-Methode) und N-freie Extraktstoffe (aus der Differenz).

Mittelzahl aus 5 Analysen normaler Rheum-Blätter (Trockensubstanz):

Asche	13,56 Proz.	(Maximum 14,29,	Minimum 13,01)
Rohfett	5,26 „	(„ 5,72	„ 4,99)
Rohprotein	14,80 „	(„ 16,32	„ 12,12)
Rohfaser	12,78 „	(„ 13,03	„ 12,34)
N-freie Extraktstoffe	54,60 „		

Die Analyse der sehr lange (9 Wochen) währenden Verwesung in Rh. a ergab

Rohasche	29,24 Proz.
Rohfett	3,03 „
Rohprotein	14,77 „
Rohfaser	14,05 „
N-freie Extraktstoffe	38,91 „

Von kürzerer Dauer war die Verwesung in der Probe Rh. 3, 4, 6.

	Rh. 3	Rh. 4	Rh. 6
Rohasche	20,08 Proz.	21,72 Proz.	24,25 Proz.
Rohfett	3,87 „	3,21 „	4,12 „
Rohprotein	14,82 „	15,92 „	15,22 „
Rohfaser	14,22 „	12,76 „	12,16 „
N-freie Extraktstoffe	50,01 „	46,39 „	44,25 „

Hauptsächlich betroffen werden von der Zersetzung der ersten Zeit offenbar die N-freien Extraktstoffe. Auch das Rohfett erleidet eine Verminderung, die wohl mit größter Wahrscheinlichkeit der Hauptsache nach auf eine Umwandlung des Chlorophylls zurückzuführen ist. Wenig verändert sind die schwer angreifbaren Stoffe, welche als „Rohfaser“ bestimmt werden, so daß sie bei längerer Verwesungsdauer (Rh. a) prozentualisch vermehrt sind. Etwas Aehnliches scheint, unter Vorbehalt der oben gemachten Reserve, für die stickstoffhaltigen Substanzen zu gelten, eine Eigentümlichkeit, die schon längst bekannt ist und z. B. für verwesendes Laub von Nessler[1]) nachgewiesen wurde.

Die mit Reinkulturen von α, γ und Hefe künstlich eingeleitete Verwesung führte, wie ja nach dem ganzen Verlauf nicht anders zu erwarten war, zu einem entsprechenden Ergebnisse. Auch hier, wo eine Analyse des normalen Ausgangsmateriales gemacht wurde, betrifft die percentualische Abnahme das Rohfett und die N-freien Extraktstoffe. Der N-Gehalt hat eine geringe Abnahme erfahren, während Asche und Cellulose percentualisch vermehrt sind.

In der Trockensubstanz enthalten:

	Blätter vor der Verwesung	Nach Impfung mit $\alpha + \gamma$ + Hefe
Rohasche	12,61 Proz.	19,68 Proz.
Rohfett	5,31 „	3,93 „
Rohprotein	16,58 „	15,92 „
Rohfaser	11,90 „	12,38 „
N-freie Extraktstoffe	53,60 „	48,09 „

Es kann somit angenommen werden, daß die Verwesung der Rhabarberblätter in dieser Reihe, bis zum Alkalischwerden und deutlich hervortretendem Schwunde ihrer Substanz auf eine Metabiose des Heubacillus nach einer Symbiose eines Milchsäurebakteriums mit einer Hefe zurückzuführen ist. Es muß aber zugegeben werden, daß die beschriebenen Laboratoriumsversuche die Verhältnisse, wie sie sich im Freien vorfinden, nur ungenügend nachahmen können. Dies trifft schon für den ungehinderten Luftzutritt zu. Wenngleich durch die gewählte Anordnung eine täglich einmalige Lufterneuerung ziemlich sicher gewährleistet war, so liegen doch gewiß unter natürlichen Verhältnissen die Bedingungen dafür noch günstiger. Darauf deutet direkt der Befund hin, daß öfters beim Stehenlassen der aus den Blättern ausgeschiedenen Flüssigkeit ein Nachdunkeln stattfand, jedenfalls eine Oxydasenwirkung, die in den verschlossenen Gefäßen, wenigstens mit der gleichen Intensität, nicht eintrat. Weiter ist zu erwähnen, daß eine Flüssigkeitsansammlung im Gefolge der Zersetzung auf und in dem Boden nicht stattfinden kann. Das was da ausgeschieden wird, wird sofort aufgesaugt und geht in feiner Verteilung Veränderungen entgegen, mit denen die im Laboratoriumsversuche erhaltenen vermutlich gar nicht verglichen werden können. Man braucht beispielsweise nur an eine Bindung freier Säuren durch Kalk oder daran zu denken, daß freiwerdende

1) Cit. bei Wollny a. a. O., p. 116.

Nährstoffe unmittelbar danach von Pflanzenwurzeln aufgenommen werden können.

Die Entlastung von übermäßiger Feuchtigkeit wirkt ihrerseits wieder begünstigend für neuen Luftzutritt u. dergl., Verhältnisse, wie sie sich im Experiment schwerlich werden herstellen lassen. Dabei ist ganz abgesehen davon, daß wohl jeder Mikroorganismus, der auf sein Nährsubstrat in bestimmter Weise einwirkt, seine physiologischen Doppelgänger hat, die Aehnliches vermögen. Es ist ganz gut denkbar, das zwei oder mehrere denselben Verhältnissen angepaßte und synergetisch wirkende Organismen in der Natur in kürzester Zeit dieselbe Veränderung hervorrufen können, zu der der einzelne im Laboratorium lange Zeit braucht.

Trotz dieser, gewiß nicht einmal erschöpfenden Bedenken, welche einer Identifizierung der erhaltenen Resultate mit dem Vorgange der natürlichen Verwesung entgegenstehen, ist es interessant, zu sehen, wie relativ einfach die biologische Ursache eines auscheinend so komplizierten Prozesses sein kann. Reicht doch dazu vielleicht die bloße Metabiose zweier so ungeheuer weit verbreiteter Lebewesen, wie es eine „wilde Hefe" und ein Heubacillus ist, aus.

Weitere Versuche.

Diese hatten hauptsächlich den Zweck, festzustellen, inwieweit der bakteriologische Befund der ersten Reihe bei Verwesungsprozessen von Rhabarberblättern konstant ist. Sie beschränkten sich daher meist nur auf eine fortlaufende Untersuchung von Blättern, die mit natürlich verwesendem Material u. dergl. geimpft worden waren. Nachdem bereits vorher ausführlich über den Gang derartiger Experimente berichtet worden ist, dürfte eine kurze Analyse, mit Hervorhebung des als wesentlich Angesehenen, genügen.

Rh. II. Impfmaterial: Rheum-Blätter, welche lose zusammengewickelt an einer mäßig feuchten Stelle eines Gartens unter Sträuchern 2 Wochen gelegen hatten. Geimpft wurde ein U-Rohr mit 25 g sterilisierter Blätter. Die auf den Tag entfallende CO_2-Bildung im wöchentlichen Durchschnitte betrug: 14,03, 14,74, 13,01, 11,57, 9,73, 7,44 ccm.

Aus dem Impfmaterial ließen sich 8 Arten von Bakterien, 2 Schimmelpilze, keine Hefe isolieren. Verflüssigende Bakterien waren darin in solcher Ueberzahl, daß sie jede Schätzung des Mengenverhältnisses unmöglich machten. Die fortlaufende Untersuchung lieferte in der ersten Zeit massenhaft Hefe[1]) und Bacillus α. Ein Mucor, der anfänglich auftrat, verschwand nach kurzer Zeit, sonstige Pilze fehlten. Verflüssigende Heubacillen, offenbar noch direkt dem Impfmaterial entstammend, fanden sich nach 2 Tagen in geringer Zahl. Dann traten sie erst am 12. Tage wieder auf und nahmen nach 16 und 18 Tagen, wo bereits starker, „tabakartiger Geruch" vorhanden war, an Zahl zu. Bereits nach 21 Tagen war alkalische Reaktion erreicht, worauf die Flora arten-

1) Die hier gefundene Hefe ist als Hefe IV bereits beschrieben.

reicher wurde und auch den modrig riechenden Bacillus β in großer Zahl enthielt. Ueberimpfung auf neue, sterilisierte Blätter ergab die typische Succession α + Hefe und später γ.

Rh. III. Das Impfmaterial und eine auszugsweise Wiedergabe des Verlaufs der Untersuchung ist bereits früher angegeben worden [1]). Zu bemerken ist, daß hier der Bacillus α zwar vorhanden war, aber niemals in solchen Mengen wie bisher auftrat. Auch die Heubacillen, und zwar untermischt mit einem typischen Bacillus microides, traten erst später, am 20. Tage, auf, erlangten aber sofort das Uebergewicht. Eine Ueberimpfung auf frische Blätter ergab die typische Reihe, doch war auch der Bacillus α nur schwächer als sonst vertreten.

Rh. VI. Impfmaterial analog dem von Rh. I und Rh. II gewonnen. Verlauf genau wie bei Rh. II. Es wurde keine Weiterimpfung vorgenommen.

Die Versuche zeigten, daß die Verbreitung der diesen Verwesungsprozess einleitenden Organismen eine sehr weite sein muß. Hefe, wenn auch nicht immer die gleiche Art und Heubacillen scheinen notwendig zu sein. Dafür sprach ein zufälliger Befund, wo die letzteren aus irgend einem Grunde ausgeblieben waren, mit großer Deutlichkeit. In der Reihe des ersten Versuches (s. oben) waren unter der Bezeichnung 9a 50 g Rheum-Blätter geimpft worden. Schon die CO_2-Bildung zeigte das Obwalten ungewöhnlicher Vorgänge an. Es waren pro Tag im wöchentlichen Durchschnitt gebildet: 13,30, 9,63, 5,74, 5,05, 5,00, 4,11 [2]). Durch mehr wie 5 Wochen fand sich eintönig nur Hefe und Bacillus α, beide in sehr großen Mengen, vor. Die Flüssigkeit wurde zwar schwächer sauer, als sie anfangs gewesen war, aber ein Umschlag in die alkalische Reaktion blieb aus und eine wesentliche Veränderung der Blätter, namentlich ein Ausscheiden reichlicher Flüssigkeitsmengen, erfolgte nicht. Der einzige Organismus, der neben α und Hefe, allerdings in sehr wechselnder Zahl, vorkam, war der in der ersten Versuchsreihe beschriebene Pilz, dessen bloß sekundäre Bedeutung somit auch aus diesem Versuche hervorgeht.

Atypisch verliefen auch die beiden bereits z. T. beschriebenen [3]) Versuche Rh. IV und Rh. V. Das Impfmaterial von ersterem bildete Erde, welche an den Wurzeln einer Rheum-Staude haftete. Hefen waren und zwar in 2 gut differenzierten Formen [4]) in sehr großer Zahl vorhanden, auch α. Erst nach 40 Tagen traten in geringer Zahl Heubacillen auf, die sich aber erst nach 48 Tagen reicher vermehrt hatten. Der Versuch wurde zwar bei schon schwach alkalischer Reaktion, aber ohne das gewohnte Bild des hochgradigen Schwundes der Blätter, abgebrochen.

Zum Versuche Rh. V dienten als Impfmaterial Rheum-

1) Centralblatt für Bakteriologie. II. Abt. Bd. VIII. p. 571. Die daselbst beschriebene Hefe V entstammt dieser Versuchsreihe und zwar wurde sie aus der Uebertragung des Materials von Rh. IV auf neue Blätter gewonnen.

2) Nur 4-tägiger Durchschnitt.

3) A. a. O. p. 571 u. 572.

4) Die bereits beschriebenen Hefen I und II.

Blätter, welche in bereits erfrorenem Zustande unter eine Rheum-Staude gelegt worden waren und daselbst im November 14 Tage liegen blieben. Die Temperatur war niedrig und zur Zeit der Entnahme hatten sie das charakteristische, verkohlte Aussehen erfrorener Pflanzenteile, zeigten aber nichts von Erweichung und Verflüssigung. Geimpft wurden 25 g sterilisierter Rheum-Blätter. Die danach einsetzende CO_2-Produktion war eigentümlich. Sie blieb nämlich durch 3 Monate hindurch nahezu konstant, hob sich nur einmal auf 11,4 ccm, betrug aber sonst immer zwischen $6^1/_2$—9 ccm für den Tag. Kulturell traten Hefe[1]) und Bacillus α in sehr großen Mengen, durch die ganze lange Zeit auf. Im Anfange fanden sich bis zum 8. Tage vereinzelt 2 nicht verflüssigende und eine Heubacillenart. Diese verschwanden aber vollständig, um nicht wieder aufzutreten. Ein Alkalischwerden der Masse trat nicht ein, der Geruch war andauernd säuerlich; die Blätter waren zwar am Schlusse zusammengesunken, aber gut kenntlich und eigentümlich tiefgrün, vielfach von Hefesäumen überzogen. Eine wesentliche Vermehrung der ausgeschiedenen Flüssigkeit fand nicht statt. Als der Versuch nach 3 Monaten abgebrochen wurde, ließ sich nur wieder Hefe und Bacillus α gewinnen. Pilze waren überhaupt ausgeblieben.

Die Bedeutung dieser atypischen Befunde ist nicht gering. Sie zeigen, daß nicht jedes beliebige Material an sich schon geeignet ist, bei Uebertragung auf verwesungsfähige, pflanzliche Stoffe auch sofort die typische Verwesung zu erzeugen; sie beweisen ferner, daß nicht jeder mit CO_2-Bildung einhergehende, durch Mikroorganismen veranlaßte Zersetzungsprozeß auch nur das Anfangsstadium der bei Luftzutritt stattfindenden Mineralisierung hervorbringen kann. Dazu ist die Thätigkeit ganz bestimmter Mikroorganismen erforderlich, die sich symbiotisch unterstützen, metabiotisch einander ablösen.

Ueber das Eindringen von Bakterien in Pflanzen.

[Aus der bakteriol. Untersuchungsstation des Garnisonlazaretts Würzburg.]

Von **Gustav Ellrodt**, Einj.-frw. Militärapotheker (Würzburg).

Von verschiedenen Seiten wurden schon Versuche darüber angestellt, ob Bakterien natürlicherweise oder durch Verwundung der Pflanzen in dieselbe einzudringen vermögen. Diese Frage ist deshalb von Bedeutung, da es nicht ausgeschlossen ist, daß pathogene Bakterien, die in die Pflanzen eingewandert sind, durch den Genuß der letzteren im rohen Zustande auf Menschen und Tiere übertragen werden können.

---

1) Als Hefe No. VI bereits beschrieben.

Lominski[1]), der diese Frage eingehend untersuchte, gelangte zu dem Resultate, daß pathogene Mikroorganismen unter Umständen in dem Gewebe höherer Pflanzen Bedingungen zu ihrer Entwickelung finden können. Jedoch bildet das intakte Oberhäutchen der Blätter und Stengel einen Schutz gegen das Eindringen von Mikroorganismen in das Gewebe der Pflanzen; traumatische Läsionen von Blättern und Stengeln erleichtern dasselbe. Bei künstlicher Impfung vermehrten sich Milzbrand-, Typhusbacillen und Staphylococcus pyogenes aureus nicht allein an der Impfstelle, sondern sie breiteten sich auch auf die benachbarten Partieen aus. Milzbrandbacillen vermehrten sich in den ersten Tagen nach der Impfung auf Agapanthus-Blättern sehr rasch, und waren dieselben nach 42 Tagen zum Teil als Sporen nachweisbar. Typhusbacillen vermehrten sich nur während einiger Tage, starben aber nach und nach ab. Staphylokokken vermehrten sich aber am meisten und konnte ein Absterben nicht nachgewiesen werden.

Zu denselben Resultaten gelangten R. Wurtz und H. Bourges[2]). Diese prüften die Frage, ob gewisse Pflanzen, die vom Menschen im rohen Zustande genossen werden (Brunnenkresse, Salat, Radieschen etc.), durch Anpflanzung auf Rieselfeldern pathogene Keime in sich aufnehmen und dadurch schädlich werden können. Zu diesem Zwecke pflanzten sie Samen der genannten Gewächse in mit Erde gefüllte Töpfe und begossen diese mit Wasser, dem sie eine bestimmte Menge Reinkultur verschiedener pathogener Mikroben zugesetzt hatten. Nach verschiedenen Zeiträumen wurden die Blätter bakteriologisch untersucht. Milzbrandbacillen ließen sich regelmäßig, selbst nach Wochen, noch nachweisen, ebenso Typhusbacillen. Die Untersuchung der Blätter bei Verimpfung mit Tuberkelbacillen ergab etwa in der Hälfte der Versuche positive Befunde.

Ganz entgegengesetzte Resultate hatte Grancher und Dechamps[3]). Diese besprengten den Boden mit einer Aufschwemmung von Typhusbacillen, ohne jedoch ein Eindringen derselben in die Pulpa der Pflanzen konstatieren zu können, obgleich die Keime bis 50 cm in den Boden eindrangen. Dagegen ist nach Ansicht dieser Forscher sehr wohl Infektion seitens etwa zum Spülen des Gemüses verwendeten verseuchten Wassers zu fürchten.

Bei diesen widersprechenden Resultaten schien es von Interesse, die Frage nochmals unter verschiedenen Versuchsbedingungen zu prüfen.

Die Versuchsanordnung war folgende: In eine Reihe von

---

1) Ueber den Parasitismus einiger pathogener Mikroben auf lebenden Pflanzen. (Wratsch. 1890. No. 6; ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. p. 325.)

2) Sur la présence des microbes pathogènes à la surface des feuilles et des tiges des végétaux, qui se sont dévéloppés dans un sol arrosé avec de l'eau contenant ces microorganismes. (Arch. de méd. expérim. T. XIII. 1901. p. 575. Ref. Schmidt's Jahrbücher. 1902. No. 1.)

3) Arch. de physiol. norm. et pathol. 1893. p. 33; ref. Kolle, Wassermann, Handbuch der path. Mikroorganismen. Bd. I. p. 207.)

Blumentöpfen wurden Hafer, Bohnen, Wicken und Erbsen eingepflanzt. Nachdem diese ca. 20 cm groß geworden, wurde die Erde mit einer Aufschwemmung von Bact. pyocyaneum in Wasser begossen. Diese Bakterienart wurde gewählt, da sie durch ihren Farbstoff leicht erkennbar ist und für Menschen und Tiere pathogene Wirkungen besitzt. Derselbe Versuch wurde mit mehreren Pflanzen, nämlich Viola odorata, Paeonia officinalis und Iris sibirica angestellt. Am nächsten Tage wurde mittels sterilen Messers ein Stück der Pflanzen abgeschnitten, mittels steriler Platinnadel in dieselbe eingestochen und von dem austretenden Saft wurden auf Agar und Glycerinagar Ausstriche gemacht. Da sich auf Agar nicht das geringste Wachstum zeigte, so wurde das Begießen der Erde mit Bakterienaufschwemmung wiederholt und nach 4—5 Tagen wiederum auf dieselbe Weise Kulturen angelegt, die ebenfalls steril blieben. In Erdproben wuchsen üppige Kolonieen des Bact. pyocyaneum.

In einer zweiten Versuchsreihe wurde in einen etwa einen Liter fassenden Erlenmeyer-Kolben folgende Nährflüssigkeit gegeben:

Asparagin	5,0
Natr. acet.	5,0
Kal. phosph.	2,0
Natr. chlor.	2,0
Magn. sulf.	0,1
Aq. dest.	1000,0

Die Nährflüssigkeit wurde mit Bact. pyocyaneum geimpft und 5 Tage im Brutschrank aufbewahrt, wobei sich üppiges Wachstum mit charakteristischer blaugrüner Farbe zeigte. In die Flüssigkeit wurden Bohnenpflanzen, die den Töpfen entnommen waren, eingesetzt, nach einigen Tagen wie oben von den Pflanzen mit sterilem Messer Blätter abgeschnitten, mit der Platinnadel in den Blattstiel eingestochen und Ausstriche auf Glycerinagar gemacht. Da die Agarröhren steril blieben, wurden die Kulturversuche nach einigen Tagen wiederholt, und zwar diesmal mit den Stengeln. Hierbei ließ sich bei einer Pflanze 15 cm von der Wurzel entfernt im Stengel Bact. pyocyaneum in Reinkultur nachweisen. Die Pflanzen, in denen bis jetzt noch keine Bacillen gefunden werden konnten, wurden kurz über der Wurzel abgeschnitten und obige Versuche wiederholt. In sämtlichen Agarröhren gingen nunmehr Kulturen an.

Da dieses Resultat nicht im Einklang mit dem der ersten Versuchsanordnung stand und vermutet wurde, daß das positive Resultat wahrscheinlich infolge Lädierung der Wurzeln beim Entnehmen der Pflanzen aus den Töpfen bedingt sei, wurde zur genauen Feststellung der Thatsache eine dritte Versuchsreihe unternommen.

Zu diesem Zwecke wurden Bohnen direkt in folgende Nährflüssigkeit gepflanzt:

Aqua	1000,0
Kal. nitr.	0,5
Calc. phosph.	0,2
Magn. sulf.	0,2
Ferr. sulf.	0,1

In dieser Flüssigkeit wuchsen die Bohnen vorzüglich; nachdem sie ca. 20 cm gewachsen waren, wurde die Nährflüssigkeit mit einer inzwischen gezüchteten Kultur von Bact. pyocyaneum vermischt und die Pflanzen eingesetzt. Bei einem Teil derselben wurden absichtlich die Wurzeln verletzt. Die nach mehreren Tagen angestellten Versuche zeigten, daß stets in die verletzten Pflanzen das Bact. pyocyaneum eingedrungen war, während dies bei den unverletzten niemals der Fall war.

Aus diesen Versuchen lassen sich die in der Litteratur veröffentlichten Widerspüche wohl erklären. Eine unverletzte Wurzel verhindert das Eindringen von Bakterien, bei einer verletzten erfolgt dieses leicht. Bei den Versuchen von Wurtz u. Bourges war höchst wahrscheinlich eine Läsion der Wurzel vorhanden. Derartige Verletzungen können ja sehr leicht vorkommen, und es genügen offenbar schon verhältnismäßig kleine Risse, um das Eindringen der Bakterien zu ermöglichen. In der Natur werden derartige Läsionen sehr häufig entstehen, z. B. durch Mäuse, Maulwürfe etc. Es ist daher nicht ausgeschlossen, daß auch einmal pathogene Bakterien aus einem verseuchten Boden oder aus einem Rieselfeld in die Pflanzen eindringen können.

Bacillus subtilis (Ehrenberg) Cohn und Bacillus vulgatus (Flügge) Mig. als Pflanzenparasiten.

Von Dr. **C. J. J. van Hall,**

Assistent am Phytopathologischen Laboratorium „Willie Commelin Scholten", Amsterdam.

1. Auftreten beider Bakterien als Fäulnis erregende Pflanzenparasiten.

In den letzten Jahren ist aus einigen Untersuchungen hervorgegangen, daß der Unterschied zwischen saprophytischen und pflanzenparasitischen Bakterien nicht so scharf ausgeprägt ist, wie man vorher meinte. Es sind die schönen Untersuchungen von Laurent[1]) und von seinem Schüler Lepoutre[2]) gewesen, welche gezeigt haben, daß es unter den saprophytischen Bakterien, ebensogut wie unter den saprophytischen Pilzen fakultative Parasiten giebt, und zwar solche, die befähigt sind, Fäulniserscheinungen an unterirdischen Organen (Kartoffeln, Möhren u. s. w.) hervorzurufen.

In der Absicht, zu erfahren, welchen unter den vulgären Bodenbakterien diese Fähigkeit zukommt, habe ich, auf Anregung und größtenteils unter Leitung des Herrn Prof. Beijerinck in Delft eine Reihe von Versuchen angestellt, aus denen hervorgegangen ist, daß zwei Arten der Heubakterien, Bacillus subtilis

1) Annales de l'Institut Pasteur. 1898. Décembre.

2) Annales de l'Institut Pasteur. 1902. Avril.

(Ehrenberg) Cohn und Bacillus vulgatus (Flügge) Mig. bei höherer Temperatur sehr toxische Eigenschaften für viele Pflanzen besitzen.

Die Versuchsanordnung war folgende: In Petri-Schalen, auf deren Boden sich ein angefeuchtetes Stückchen Filtrierpapier befand, wurden frisch geschnittene Scheiben verschiedener Pflanzenteile gebracht und mit einer geringen Menge Wasser übergossen, das mit Erde (Verhältnis 1:1) tüchtig geschüttelt war, oder sie wurden mit feuchter Erde bestrichen. Ich benutzte hierbei Erde verschiedener Herkunft: Aus dem Garten des bakteriologischen Laboratoriums in Delft, aus dem Garten des phytopathologischen Laboratoriums in Amsterdam, aus den Vorratskellern einiger Gemüsehandlungen in Delft und schließlich wurde oft die den Pflanzen selbst anhaftende Erde benutzt.

Die Resultate dieser Infektionen mit Erde waren so, daß bei niederer Temperatur (23°, 30°) niemals Fäulnis auftrat[1]), doch sehr oft bei höherer Temperatur (37°, 42°). Als deren Ursache ergab sich immer eines der beiden obengenannten Heubakterien, Bacillus subtilis oder Bacillus vulgatus.

Ein einziges Mal nur hat sich eine andere Art gezeigt, und zwar als Ursache einer Fäule, die nach Infektion mit Erde eine Kohlrübe (Brassica Napus rapifera) angegriffen hatte. Trotz mancher Wiederholung des Versuches ist dieser Mikrobe, der dem Bacillus subtilis nahe verwandt schien, jedenfalls auch zu den Heubakterien, aber augenscheinlich zu den selteneren Arten gehörte, nicht wieder aufgetreten.

Dieser seltenen Fäulniserscheinung stehen die regelmäßig auftretenden Fäulniserscheinungen gegenüber, die durch B. vulgatus und B. subtilis erzeugt werden und deren Auftreten bei den Infektionen der verschiedenen Pflanzenteile mit Erde aus folgender Tabelle zu ersehen ist: (siehe Tabelle I S. 644.)

Laurent hatte beobachtet, daß eine künstliche Verminderung der Acidität des Zellsaftes den Widerstand der Pflanze gegen bakterielle Angriffe herabsetzt. Indem er die Kartoffelscheiben während einer Stunde in eine Lösung von 1 ‰ Kalilauge legte, machte er die Scheiben empfänglich für die Angriffe vieler sonst unschuldiger Bakterienarten.

In der Hoffnung, noch andere Bakterien als die zwei genannten als Fäulniserreger auftreten zu sehen, habe ich Laurent's Methode angewendet und die Scheiben, bevor sie mit Erde übergossen wurden, während einer Stunde in eine 1 ‰ Lösung von Kalilauge gelegt. Doch lieferten die Versuche nichts Neues; immer waren es wieder Bacillus subtilis und Bacillus vulgatus, welche als Ursache der Fäule auftraten.

---

1) Nur die Möhrenscheiben zeigten bei diesen Temperaturen 24 Stunden nach Infektion mit Erde bisweilen faule Stellen. Ueberimpfung des faulenden Materiales auf frische Scheiben blieb oft erfolglos, und in dieser Hinsicht wie auch in der Art des Auftretens zeigte sich diese Fäulnis recht launisch. Die aërobe Bakterienflora, die sich hierbei entwickelte, enthielt immer verschiedene Arten; Infektionen mit Reinkulturen dieser Arten blieben stets ohne Erfolg und bis jetzt bin ich über die Ursache dieser Fäulnis noch nicht im klaren.

Tabelle I.

	37°	42°
Topinambur (Knolle)	Bacillus subtilis tritt bisweilen als Fäulniserreger auf; meistens jedoch bleiben die Scheiben gesund	Bacillus subtilis erscheint ausnahmslos als Fäulniserreger
Kartoffel (Knolle)	Bacillus subtilis und Bacillus vulgatus. (Erstgenannter ausnahmslos, letztgenannter ist eine seltenere Erscheinung)	Bacillus vulgatus und Bacillus subtilis. (Hier ist erstgenannter der am meisten vorkommende)
Haselnuß (Samen)	Bacillus subtilis und Bacillus vulgatus erscheinen bisweilen als Fäulniserreger; nicht selten aber bleiben die Scheiben gesund	Bacillus vulgatus
Kastanie (Samen) (Castanea vesca).	Bacillus vulgatus tritt bisweilen auf; meistens jedoch bleiben die Scheiben gesund	Bacillus vulgatus
Kohlrübe (Knolle) (Brassica Napus rapifera) Mai-Rübe (Brassica Rapa rapifera) Möhre Mohrrübe Rote Rübe Sellerieknolle Petersilie (Wurzel) Witlof (Blätter) (Cichoria Intybus) Blumenkohl	keine Fäulnis	Bacillus vulgatus
Iris florentina (Rhizom) Gartenbohne (Samen) Arachis (Samen)	keine Fäulnis	keine Fäulnis

Ich möchte an diesem Ort zugleich darauf hinweisen, daß die Infektionen mit Erde uns eine bequeme Methode liefern, um Bacillus vulgatus oder Bacillus subtilis aus dem Boden zu isolieren. Die vielfach angewandte Methode, aus einem Heuinfus Bacillus subtilis zu erhalten, führt, jedenfalls bei uns in Holland, sehr oft nicht zum Ziel, weil sie andere Arten als die gewünschte zum Vorschein bringt.

2. Bacillus subtilis als Pflanzenparasit.

Wie aus Tabelle I zu ersehen ist, sind Topinambur, Kartoffel und Haselnuß die Pflanzen, welche bei einer Infektion mit Erde von B. subtilis angegriffen werden.

Werden Kartoffelscheiben mit ein wenig Erde bestrichen oder mit Wasser, geschüttelt mit Erde, leicht übergossen und darauf in den Thermostaten bei 37° gestellt, so zeigen sich nach 24 Stunden auf der sonst trockenen weißen Scheibe kleine, feuchte, dunkel gefärbte Stellen, die schnell an Größe zunehmen und nach nochmals 24 Stunden sich über den größten Teil der Scheibe erstreckt haben. Sie wimmeln von Bakterien, die alle, oder fast alle zu B. subtilis gehören, wie die Kolonieenkulturen beweisen.

Auf ganz dieselbe Weise benehmen sich die mit Erde infizierten Topinamburscheiben.

Die Haselnußscheiben zeigen mehr oder wenig schleimige Stellen; Verfärbung tritt hier nicht ein.

Variabilität der Bakterien.

Die Kulturen, die von den faulenden Stellen angelegt wurden, hatten immer dasselbe Aussehen; Variabilität ließ B. subtilis in dieser Hinsicht nicht erkennen. Wohl aber zeigte sich nach einiger Zeit in den Kulturen eine andere eigentümliche Variationserscheinung.

Wenn man aus einer Kolonie eine Strichkultur auf Malzagar anlegt, so sieht man oft, meistens schon nach Verlauf von 2 oder 3 Tagen, an einzelnen Punkten des Striches Auswüchse entstehen, welche sich durch ihre Durchsichtigkeit von dem milchweißen oder gelblichtrüben Strich ziemlich stark abzeichnen; diese Auswüchse fahren fort, schneller zu wachsen als ihre Umgebung und haben sich bald als durchsichtige Sektoren herausgebildet.

Die mikroskopische Betrachtung des Inhalts dieser Sektoren zeigte, daß Sporen hierin durchaus fehlten; das Material des Striches selbst jedoch enthielt dieselben in großer Menge. Durch Ueberimpfung ließ sich diese „asporogene Varietät" leicht rein gewinnen und blieb auch bei weiterer Kultivierung sporenfrei. Doch muß ich sogleich hinzusetzen, daß die Fähigkeit, Sporen zu bilden, bei dieser Varietät nicht ganz und gar verloren gegangen ist. Von Zeit zu Zeit, doch immerhin sehr selten, entsteht ein Atavist, der die Eigenschaft, Sporen zu formen, wieder zum Vorschein bringt. Mikroskopisch lassen sich diese Atavisten freilich nicht wiederfinden; dafür sind sie viel zu selten. Wenn man aber eine nicht zu junge Kultur der asporogenen Variation, z. B. eine auf Malzagar, vom Nährboden abstreift, die ganze Masse in etwas Wasser aufschwemmt, bis zum Sieden erhitzt und sodann auf Malzagar oder auf sterilisierter Kartoffel aussät, so erscheinen nicht selten nach 24 Stunden (37°) eine oder mehrere Kolonieen, die wieder zur ursprünglichen, sporogenen Form gehören. Bei fortgesetzter Kultur der „asporogenen Varietät" scheinen die Atavisten jedoch immer seltener zu werden.

Infektionsversuche mit Reinkulturen.

Die Infektionsversuche mit Reinkulturen wurden mit beiden Formen (sporogene und asporogene Form) an verschiedenen Pflanzenteilen ausgeführt. Diese wurden vorher immer von den anhaftenden Keimen befreit, und zwar auf folgende Weise: Mit Seife wurden

die Pflanzenteile unter dem Wasserhahn tüchtig abgebürstet, sodann abgeschält und während einiger Minuten in 2 ‰ Sublimatlösung gelegt und schließlich mit sterilem Wasser abgewaschen.

Frisch geschnittene Scheiben dieser Pflanzenteile wurden sodann in Petri-Schalen gelegt und mit Material aus jungen Reinkulturen infiziert, welches als dünner Strich aufgebracht wurde. Diese Reinkulturen waren erst seit kurzem aus der Erde isoliert mittels der Methode der Erdinfektionen lebender Pflanzenteile. Bei diesen Infektionsversuchen mit Reinkulturen zeigte sich die asporogene Form ebenso wirksam wie die sporogene.

Die Resultate, 24 Stunden nach erfolgter Infektion, sind in Tabelle II dargestellt:

Tabelle II.

	37°	30°	23°
Stark faulend	Kartoffel Topinambur Sellerieknolle Möhre Mohrrübe Kohlrübe Mairübe Haselnuß	Kartoffel Topinambur Mairübe Sellerieknolle Möhre	
Schwach angegriffen	Kastanie	Kohlrübe Mohrrübe Haselnuß. Kastanie	Kartoffel Tobinambur
Nicht angegriffen	Petersilienwurzel	Petersilienwurzel	Mairübe Selleriewurzel Möhre Mohrrübe Kohlrübe Haselnuß Kastanie Petersilienwurzel

Aus einem Vergleiche von Tabelle II mit Tabelle I stellt sich sogleich heraus, wie sehr der Erfolg einer Infektion von der Menge des ein- oder aufgebrachten Bakterienmaterials abhängt. Die einzelnen Keime, die bei den Infektionen mit Erde aufgebracht werden, sind nicht imstande, bei 30° eine der obengenannten Pflanzen anzugreifen, jedoch werden bei Strichinfektionen mit Reinkulturen Kartoffel, Topinambur, Mairübe, Sellerieknolle und Möhre stark angegriffen, und ebenso bleiben Möhren, Rüben u. s. w. (s. Tabelle I) bei Infektion mit Erde bei 37° gesund, werden jedoch bei Strichinfektion mit Reinkultur bei 37° stark faulend.

Als 3 Monate später, nachdem obengenannte Infektionsversuche stattgefunden hatten, dieselben mit den Kulturen wiederholt wurden, welche während dieser Zeit auf künstlichem Nährboden kultiviert und wiederholt übergeimpft waren, ergaben sich ganz andere Resultate. Alle Pflanzen blieben trotz Infektion gesund, ausgenommen die Kartoffel, die von der sporogenen Form noch stark angegriffen

wurde; die asporogene Variation übte jedoch selbst auf Kartoffel nur noch eine sehr schwache Wirkung aus und die verursachte Fäule war nur eine unbedeutende. Bei beiden Formen war die Virulenz also durch die während 3 Monaten stattgefundene Kultur auf künstlichen Nährböden stark abgeschwächt, und zwar war diese Abschwächung bei der asporogenen Form weiter fortgeschritten als bei der sporogenen Form.

Laurent hat schon betont, daß zur Wiederherstellung der Virulenz bei Pflanzenparasiten dieselbe Methode zweckentsprechend ist, welche bei den menschen-pathogenen Bakterien vielfach angewandt wird, die Passage durch empfänglichere Organismen. Auch für die Heubacillen hatte diese Methode den erwünschten Erfolg. Eine einmalige Passage auf Kartoffeln genügte zur Wiederherstellung der Virulenz bei beiden Formen des B. subtilis.

Außer den Infektionen von Scheiben wurden auch Infektionsversuche an intakten Knollen von Kartoffel, Topinambur und Mairübe angestellt, deren Oberfläche auf die schon beschriebene Weise gereinigt und von anhaftenden Keimen befreit worden war. In eine kleine Wunde wurde etwas Bakterienmaterial (sporogene Form) hineingebracht und die Knollen wurden weiterhin in einer sterilisierten Glasschachtel aufbewahrt und in den Thermostaten bei konstanter Temperatur (37°, 30°, 23°) gestellt. Die Resultate sind aus folgender Tabelle zu ersehen:

Tabelle III.

	37°	30°	23°
Schnell fortschreitende Fäule (die ganze Knolle ist in 4 oder 5 Tagen verfault)	Kartoffel Topinambur		
Langsam fortschreitende Fäule (die ganze Knolle ist in 10—12 Tagen verfault)	Mairübe	Kartoffel Topinambur	
Nicht fortschreitende Fäule		Mairübe	Kartoffel Topinampur Mairübe

Bei allen diesen Infektionsversuchen wurde konstatiert, daß B. subtilis der einzige Mikroorganismus war, der sich in den faulenden Geweben vorfand. Fremde Keime wurden durch die genannte Sterilisierungsmethode durchaus ferngehalten.

Charakteristik der Fäule.

Es entsteht bei allen empfänglichen Pflanzen eine charakteristische Weichfäule, die bei 37° schnell fortschreitet. 4—5 Tage nach erfolgter Infektion ist z. B. die ganze Topinambur- oder Kartoffelknolle zu einer weichen Masse geworden.

Untersucht man mikroskopisch eine solche Knolle 1 oder 2 Tage nachdem die Infektion stattgefunden hat, so läßt sich der ganze Prozeß des Zerfalls leicht verfolgen. An der Grenze

zwischen dem noch gesunden und dem faulenden Gewebe sind die Zellen im Absterben begriffen, das Protoplosma zieht sich zusammen und wird körnig; zu gleicher Zeit oder vielleicht etwas später, verlieren die Zellen ihren Zusammenhang untereinander, infolge der Auflösung der Mittellamelle. An dieser Stelle sind die Bakterien selbst noch nicht anwesend, so weit sind sie noch nicht vorgedrungen; ihre Sekrete, und zwar, wie wir sahen, jedenfalls ihre tötenden und die Mittellamelle lösenden, sind ihnen vorausgeeilt. Erst weiter vom noch gesunden Gewebe entfernt, also mehr der Infektionsstelle genähert, finden wir die Bakterien, und zwar nicht in, sondern nur zwischen den isolierten Zellen. Dem B. subtilis geht die Fähigkeit, Cellulose zu verarbeiten, durchaus ab und ein Eindringen in die Zellen ist ihm also nicht möglich. Bei fortschreitender Zersetzung wird der Inhalt der toten Zellen allmählich resorbiert und das körnige tote Protoplasma verschwindet größtenteils. Am längsten bleiben die Stärkekörner intakt; doch auch diese werden schließlich angegriffen, sie verlieren ihre scharfen Contouren und bilden formlose Klumpen, die langsam in Lösung gehen und verschwinden [1]).

Bei dieser Zersetzung zeigt die Kartoffel und der Topinambur eine charakteristische braune oder schwarzgraue Verfärbung. Diese wird jedoch nicht unmittelbar von den Mikroben verursacht; diese Knollen zeigen ja die Verfärbung immer, wenn sie absterben unter Bedingungen, wobei ihre Enzyme intakt bleiben, also z. B. wenn sie eine halbe Stunde in Wasser von 55° liegen bleiben oder wenn sie durch Zerdrücken getötet werden. Tötet man jedoch die Kartoffel oder den Topinambur durch Siedehitze, dann bleibt, wie bekannt, die weiße Farbe erhalten. Und auch beim Absterben unter Sauerstoffabschluß (z. B. bei anaërober Fäulnis, wobei das Buttersäureferment eine Rolle spielt) tritt keine Verfärbung ein. Es ließ sich also vermuten, daß eine Oxydase die dunkle Verfärbung veranlaßte, und es stellte sich heraus, daß die Tyrosinase das hierbei wirksame Enzym war, und die schwarze oder braune Farbe also durch Oxydation der Tyrosine entsteht.

Die Farbe, welche bei der von B. subtilis verursachten Fäulnis auftritt, ist jedoch dunkler als die, welche sich zeigt, wenn man die Kartoffel zerdrückt oder bei 55° sterben läßt; das bei der Fäule erzeugte Alkali ist die Ursache dieser Farbeverstärkung.

Die faulenden Pflanzenteile verbreiten einen ziemlich charakteristischen Geruch, wobei jener von Trimethylamin und von Ammoniak in den Vordergrund tritt.

Die Reaktion ist immer alkalisch (bei der Kartoffel bis 3,3 Proz. N).

---

1) Daß B. subtilis ein diastatisches Enzym produziert, läßt sich leicht demonstrieren an Strichkulturen auf Fleischwasser-Agar, dem 0,5 Proz. Stärke zugefügt ist. Wenn diese Kulturen nach 3 oder 4 Tagen mit Jodilösung übergossen werden, bleibt in der nächsten Umgebung des Striches die Blaufärbung aus.

Toxin.

Wie schon oben bemerkt wurde, ließ sich aus dem Verlaufe der Fäulnis schon ahnen, daß ein Virus von dem Bacillus produziert wurde. Um diese Sache zur Klarheit zu bringen, wurden einige durch B. subtilis verfaulte Kartoffeln ausgepreßt und der Saft durch ein Porzellanfilter filtriert. Dieses Filtrat zeigt sich sehr toxisch für das Pflanzengewebe: Ein Tropfen auf einer Kartoffelscheibe hatte nach Verlauf von 24 Stunden bei 37° ein großes Stück Gewebe zum Absterben gebracht.

Durch Alkohol ließ das Virus sich präcipitieren. Alkohol absolutus wurde dem Filtrat zugesetzt im Verhältnis 2:1; ein mächtiges Präcipitat setzte sich ab, und nachdem die Flüssigkeit dekantiert war, wurde der Niederschlag im Thermostaten getrocknet und weiterhin zu einem trockenen Pulver zerrieben. Auch dieses Pulver zeigte stark toxische Eigenschaften: Ein kleines Quantum auf lebende Kartoffel-, Rüben- oder Möhrenscheiben gebracht, hatte 2 Stunden später (37°) das Gewebe stark angegriffen und einen großen Teil desselben getötet.

Erhitzung der filtrierten Flüssigkeit bis zur Siedehitze genügte, um die toxischen Eigenschaften ganz zu vernichten. Wir dürfen also von einem Toxin sprechen.

Neutralisierung mittels Salzsäure (wie schon bemerkt, war die Reaktion der Flüssigkeit ursprünglich alkalisch) schadete dem Toxin jedoch gar nicht.

Die Temperatur übt einen großen Einfluß auf die Wirksamkeit des Toxins aus. Bei 37° war der filtrierte Preßsaft sehr wirksam, doch schon bei 30° deutlich schwächer, und bei 23° war fast keine toxische Wirkung mehr zu entdecken.

Wie in dem Preßsafte verfaulter Kartoffeln, war das Toxin auch in den Kulturen in Malzextrakt und Fleischbrühe, nach vorhergehender Filtration durch den Bougiefilter, leicht nachzuweisen.

Es giebt jedoch noch eine andere Methode, mittels welcher sich leicht demonstrieren läßt, daß der Bacillus ein Virus secerniert und welche zu gleicher Zeit geeignet erscheint, die Abhängigkeit der Toxinproduktion von den Ernährungsbedingungen zu studieren. Beijerinck hat bei seiner Untersuchung der Mosaikkrankheit des Tabaks [1]) das Virus durch eine Agarplatte diffundieren lassen und so demonstriert, daß das Kontagium als wasserlöslich betrachtet werden muß. Mit einer kleinen Aenderung habe ich dieses Verfahren zu meinem Zweck benutzt. Auf Malzagar wurden kurze Kulturstriche gezogen und, nachdem bei 37° ein üppiges Wachstum eingetreten war, die Stückchen Agar, auf welchen sich die Strichkulturen befanden, mit einem sterilen Messer ausgeschnitten und auf frisch geschnittene Kartoffelscheiben gelegt, welche wieder in den Thermostaten (37°) gesetzt wurden. Einen Tag nachher war die toxische Wirkung sichtbar. Gerade unter dem Kulturstriche war das Kartoffelgewebe getötet und zu einer weichen Masse geworden.

---

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 29.

Derselbe Versuch wurde wiederholt, jedoch wurden statt mit Malzextrakt Agarplatten mit anderen Nährlösungen bereitet; so wurde Fleischwasser benutzt und Leitungswasser + 0,025 Proz. K_2HPO_4, dem 3 Proz. Saccharose + 1 Proz. Pepton „Witte“, 3 Proz. Saccharose + 0,25 Proz. Asparagin, 3 Proz. Saccharose + 0,1 Proz. Ammoniumsulfat, 3 Proz. Saccharose + 0,1 Proz. Kalinitrat hinzugefügt wurden. Auf diesen verschiedenen Agarböden wurden wieder Strichkulturen angelegt, mit welchen in derselben Weise experimentiert wurde, wie oben für die Striche auf Malzagar angegeben worden ist. Das Wachstum war auf allen diesen Nährböden sehr üppig und in dieser Hinsicht war zwischen den verschiedenen Kulturen kein Unterschied bemerkbar. Ihre toxische Wirkung war jedoch sehr verschieden, und zwar war von den Kulturen auf Saccharose-Kalinitrat-Agar und auf Saccharose-Ammoniumsulfat-Agar gar keine toxische Wirkung zu sehen. Bei den Kulturen auf Fleischwasseragar war diese sehr stark, ebenso wie oben von den Kulturen auf Malzagar beschrieben wurde; schwächer zeigte sie sich bei den auf Saccharose-Peptonagar, noch schwächer, doch immerhin noch deutlich wahrnehmbar, bei den auf Saccharose-Asparaginagar.

3. Bacillus vulgatus als Pflanzenparasit.

Wie aus Tabelle I zu ersehen ist, tritt bei den Infektionen mit Erde Bacillus vulgatus an vielen Pflanzen als Fäulniserreger auf, und zwar werden regelmäßig bei 42° befallen: Haselnuß, Kartoffel, Kastanie, Kohlrübe, Mairübe, Möhre, Mohrrübe, rote Rübe, Sellerieknolle, Petersilienwurzel, Witlofblätter und Blumenkohl, bei 37° werden nur Kartoffel, Haselnuß und Kastanie bisweilen befallen.

24 Stunden, nachdem die Pflanzen mit Erde infiziert und in den Thermostaten bei 42° gestellt worden waren, sind kleinere und größere, öfters freilich recht ansehnliche, schleimige Stellen erschienen, welche bisweilen schon mit einer gefalteten Bakterienhaut überdeckt sind. In gleicher Weise zeigen sich von Zeit zu Zeit bei 37° faulende Stellen auf Haselnuß und Kastanie. Auf Kartoffel ist die Erscheinung bei 37° etwas anders; außer den im vorigen Paragraphen beschriebenen Faulstellen, welche durch B. subtilis verursacht werden, zeigen sich bisweilen kleine, weiße, runde, fadenziehend-schleimige Kügelchen, unter welchen eine sehr kleine Partie des Kartoffelgewebes faulend ist.

Variabilität der Bakterien.

Die Bakterienflora dieser faulenden Stellen besteht ausschließlich oder fast ausschließlich aus B. vulgatus. Die verschiedenen Kulturen, welche hieraus auf Malzagar angelegt wurden, zeigten jedoch in ihrem Habitus nicht unerhebliche Unterschiede. Bisweilen hatten sie ein trocken-feinkörniges, öfters ein mehr oder weniger fettig-schleimiges Aussehen, und noch andere Unterschiede wurden beobachtet, welche sich alle konstant zeigten und bei Ueberimpfung immer wieder zum Vorschein kamen. Diese verschiedene

Formen bilden also wahrscheinlich ebensoviele Unterarten des B. vulgatus. Für ihr Auftreten bei den Infektionen mit Erde ließ sich aber keine Regel aufstellen.

Infektionsversuche mit Reinkulturen.

Bei den Infektionsversuchen mit Erde wurde schon konstatiert, daß die Temperatur der parasitischen Thätigkeit für B. vulgatus höher liegt als für B. subtilis; die Infektionen mit Reinkulturen lassen dies noch deutlicher an das Licht treten. Untenstehende Tabelle zeigt die Resultate in 24 Stunden nach erfolgter Infektion der Scheiben:

Tabelle IV.

	37°	30°	23°
Stark faulend	Kartoffel, Sellerieknolle, Möhre, Mohrrübe, Kohlrübe, Mairübe, Haselnuß, Kastanie, Petersilienwurzel, Blumenkohl, Meerrettich	Kartoffel	
Schwach angegriffen		Blumenkohl, Meerrettig	
Nicht angegriffen		Sellerieknolle, Möhre, Mohrrübe, Kohlrübe, Mairübe, Haselnuß, Kastanie, Petersilienwurzel	Kartoffel, Blumenkohl, Meerrettich, Sellerieknolle, Möhre, Mohrrübe, Kohlrübe, Mairübe, Haselnuß, Kastanie, Petersilienwurzel

Die Minimumtemperatur, bei welcher die Infektionen mit Reinkulturen von B. vulgatus noch Erfolg haben, liegt also ungefähr bei 30° (bei B. subtilis liegt diese Minimumtemperatur ungefähr bei 23°, siehe Tabelle II).

Auch hier wurden diese Infektionsversuche wiederholt, nachdem der Bacillus während 3 Monaten auf künstlichem Nährboden gezüchtet und inzwischen mehrmals übergeimpft war. Die Abnahme der Virulenz war hier ebenso auffallend wie bei B. subtilis: Nur die Kartoffel und die Haselnuß wurden bei 37° noch stark angegriffen, die Mairübe schwach, alle übrigen Pflanzen blieben gesund. Die bei B. subtilis zur Wiederherstellung der Virulenz angewandte Methode war auch hier zweckentsprechend: Das Bakterienmaterial, das aus der noch stark angegriffenen Kartoffel isoliert war, wurde übergeimpft auf Meerrettich und Kastanie und war wieder imstande,

diese Pflanzen in Fäulnis zu versetzen. Das aus diesen faulenden Pflanzen isolierte Material hatte wiederum die ursprüngliche Virulenz.

Charakteristik der Fäule.

Diese verläuft hier in ähnlicher Weise wie bei B. subtilis. Erhebliche Unterschiede zeigten sich nicht; nur die Farbe und der Geruch der faulenden Pflanzenteile ist etwas anders.

Toxin.

Ein Toxin, welches mit Alkohol gefällt und durch Kochhitze vernichtet wird, ließ sich auch hier leicht nachweisen. Die Toxinproduktion schien aber bei B. vulgatus nicht auf dieselbe Weise wie bei B. subtilis von den Ernährungsverhältnissen beeinflußt zu werden; Kulturen auf verschiedenen Nährböden zeigten in dieser Beziehnung keinen Unterschied, auf allen war die Toxinproduktion eine sehr starke.

4. Schlußbetrachtungen.

Wie aus Obenstehendem hervorgeht, entwickeln B. subtilis und B. vulgatus für viele Pflanzen sehr toxische Eigenschaften und sind als virulente Fäulniserreger wirksam. Ihre parasitischen Eigenschaften entwickeln sie jedoch nur bei höherer Temperatur, B. vulgatus nicht unter 30°, B. subtilis nicht unter 23°. Dieser Umstand macht es freilich sehr unwahrscheinlich, daß die genannten Mikroben in unserem Klima je als Fäulniserreger auftreten; weder auf den Feldern noch in den Vorratskellern werden wir von diesen Bakterien Fäulnis zu erwarten haben. Es scheint mir jedoch nicht unmöglich, daß sie in wärmerem Klima als schädliche Fäulniserreger auftreten könnten.

Ueber die von A. Vogl entdeckte Pilzschicht in Loliumfrüchten.

Von **H. Neubauer**, Breslau.

Die von A. Vogl in der Frucht von Lolium temulentum L. entdekte Pilzschicht [1]) soll nach den Mitteilungen verschiedener Botaniker in den Früchten anderer Lolium-Species fehlen. T. F. Hanausek berichtet allerdings nur, daß er in den Früchten von Lolium perenne L. vergeblich danach gesucht habe [2]). A. Nestler sagt aber ausdrüklich und bestimmt [3]): „In den Früchten von anderen Lolium-Arten, als L. perenne L., L. multiflorum Lam. (=L. italicum A. Br.), L. remotum Schrank (= L. arvense Schrad.), L. festucaceum Link (= L. perenne L. × Festuca

1) Zeitschrift für Nahrungsmitteluntersuchung, Hygiene und Warenkunde. 1898. No. 2. p. 28.
2) Ber. d. deutschen botan. Ges. Bd. XVI. 1898. p. 203.
3) Ber. d. deutschen botan. Ges. Bd. XVI. 1898. p. 207.

elatior L.) u. a., die ich genau untersuchte, ist ein ähnliches Vorkommen eines Pilzes nicht vorhanden." L. Hiltner endlich, der Versuche über stickstoffsammelnde Eigenschaften der von dem Pilz bewohnten Lolium-Pflanzen anstellte, sagt[1]), daß er durch eigene Untersuchung die Beobachtungen der beiden genannten Forscher in jeder Hinsicht bestätigen konnte.

Nach all diesen Ergebnissen müßte die Gegenwart dicht verschlungener Pilzfäden in der sogenannten hyalinen Schicht eines Lolium-Samens ein vollgiltiger Beweis dafür sein, daß die Species L. temulentum L. vorliegt. Als ich vor einiger Zeit vor die Aufgabe gestellt wurde, kleine Fragmente von Lolium-Früchten näher zu bestimmen, überzeugte ich mich aber davon, daß auch Lolium remotum Schrank eine Pilzschicht besitzt, die derjenigen von L. temulentum L. in jeder Beziehung gleicht. Ich habe eine große Anzahl von Früchten verschiedener Herkunft und aus wenigstens 5 verschiedenen Jahrgängen stets mit demselben Erfolge untersucht. Auch Herr Dr. C. Remer, Direktor der agrikulturbotanischen Versuchsstation Breslau, konnte meine Beobachtungen bestätigen. Derselbe fand ferner in einer Probe von Lolium perenne L. ein zwar entsprechend der Kleinheit der Frucht viel zarteres, aber sonst ganz analoges Hyphengeflecht, und auch mir gelang daraufhin der Nachweis desselben in einer anderen Probe derselben Species. Allerdings gehört ein solcher Befund bei L. perenne L. zu den Seltenheiten, und bei Lolium multiflorum Lam. ist uns trotz wiederholten Suchens die Pilzschicht niemals zu Gesicht gekommen. Durch die interessante Vogl'sche Entdeckung schien die Ursache der auffallenden, allerdings noch nicht einwandsfrei erwiesenen Giftigkeit der reifen Früchte von Lolium temulentum L. in dem Pilze aufgefunden zu sein. Vogl selbst legte das Vorkommen des Pilzes bei dem giftigen L. temulentum und das vermeintliche Fehlen bei dessen harmlosen nächsten Verwandten in diesem Sinne aus. Die Entdeckung der Pilzschicht in anderen Lolium-Arten eröffnet nun die Aussicht, diese Vogl'sche Vermutung auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Wenn es gelänge, die Giftigkeit von L. temulentum nachzuweisen, so müßte sich auch, wenn der Pilz wirklich die Ursache derselben wäre, auf demselben Wege und mit denselben Mitteln die Giftigkeit von L. remotum feststellen lassen. Ja, die mit dem Pilze behafteten Exemplare von L. perenne müßten giftig, die pilzfreien ungiftig sein.

Herr Dr. C. Remer und ich behalten uns die Bearbeitung dieser in botanischer, chemischer und physiologischer Hinsicht gleich interessanten Frage vor, sobald die allerdings sehr viel Zeit beanspruchende Ansammlung ausreichender Mengen von Untersuchungsmaterial beendet sein wird.

Breslau, den 19. August 1902.

---

1) Centralb. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. V. 1899. p. 835.

Ueber die Spezialisierung des Getreideschwarzrostes in Schweden und in anderen Ländern.

Von **Jakob Eriksson**,

(Experimentalfältet, Albano [Stockholm]).

(Schluß.)

Nach dem Haferschwarzroste folgt in Schweden rücksichtlich der Vitalität die für Roggen und Gerste gemeinsame f. sp. Secalis. Dieses paßt damit gut zusammen, daß im Umfang der Kultur der Roggen nach dem Hafer und die Gerste nach dem Roggen folgt. Kräftiger zeigt sich diese Form auf dem häufigeren Roggen, schwächer auf der weniger angebauten Gerste. Die niedrigere Vitalität der Form, wenn man dieselbe mit der des Hafers vergleicht, kann übrigens auch damit in Verbindung gesetzt werden, daß die Konkurrenz mit anderen Rostarten weit schwieriger ist. Auf dem Roggen treffen wir neben Schwarzrost auch Braunrost (Puccinia dispersa) und auf der Gerste neben Schwarzrost noch Gelbrost (P. glumarum f. sp. Hordei) im nördlichen und Zwergrost (P. simplex) im mittleren und südlichen Schweden. Sämtliche Formen zeigen, je in ihrem Gebiete, eine viel größere Vitalität, als der Kronenrost auf dem Hafer.

Die geringste Vitalität besitzt der Weizenschwarzrost, wie auch der Weizen mit Rücksicht auf Kulturareal in Schweden den letzten Platz einnimmt. Zu der bedeutend herabgesetzten Vitalität trägt wohl auch der Umstand bei, daß man hier zwei konkurrierende Rostarten hat, den Weizengelbrost (Puccinia glumarum f. sp. Tritici) und den Weizenbraunrost (P. triticina), von denen besonders der erstgenannte dem Schwarzrost an Vitalität weit überlegen ist.

In Nordamerika stellen sich die Verhältnisse anders. Dort kommen mit Rücksicht auf Kulturareal zuerst der Weizen und der Hafer, von denen jede eine Produktion hat, die etwa 6-mal so groß ist, wie die von Gerste und Roggen zusammen. In den Vereinigten Staaten von Nordamerika betrug nämlich in dem oben citierten Jahre 1891 das produzierte Quantum von Weizen 125 und das von Hafer 123 Millionen Deziton, während die Gerste nur 14 und der Roggen nur 7 Millionen ausmachte. Man kann es dann nicht so überraschend finden, daß die Schwarzrostformen von Weizen und von Hafer dort die größte Entwickelung erreicht haben und besonders die Form des Roggens zurückgeblieben ist. Die Form des Weizens hat sich übrigens dort auch der Gerste bemächtigt, d. h. dieselbe Stelle eingenommen, welche in Schweden der Form des Roggens zukommt. Als ein günstiger Umstand für die Ausbildung des Weizenschwarzrostes in Nordamerika muß vielleicht auch gerechnet werden, daß der schwere Konkurrent des Schwarzrostes in Schweden, d. h. der Weizengelbrost, wie es scheint, in Nordamerika gar nicht auftritt.

* * *

Nach der hier gegebenen Deutung könnte man sich auch Unterschiede der Spezialisierung des Schwarzrostes in den einzelnen Ländern von Europa denken, und dieselben durch die Annahme erklären, daß die Pilze in den Ländern ungleich gut gedeihen und daß die Getreidearten in einem unter sich ungleichen Maßstabe angebaut werden. In der That fehlt es auch nicht an Beobachtungen, die eine solche Annahme stützen.

Erinnern wir uns nun zuerst der bemerkenswerten Versuchsergebnisse, die am Experimentalfelde im Sommer 1900 erhalten und oben (Tabelle 2, Serie XVII) beschrieben worden sind, wo das Infektionsmaterial aus in Ungarn geerntetem Weizen stammte. Es traten reichliche Ausschläge auf Hafer hervor.

Ferner müssen wir auf gewisse neulich aus der Schweiz beschriebene Studien über dort einheimische Schwarzrostformen achtgeben. Die schweizerischen von F. Müller (I, 202 etc.) im August des Jahres 1899 an 36 verschiedenen Lokalitäten, sämtlich im Kanton Wallis, ausgeführten Studien haben freilich, ebenso wie gewisse ähnliche in Schweden aus den Jahren 1890—93 (Eriksson und Henning, II, 94 etc.), den Zweck gehabt, das gleichzeitige Vorhandensein rostfreier und rosttragender Grasarten an einer und derselben Lokalität neben Berberitzensträuchern zu konstatieren. Allerdings kann man nicht aus so ausgeführten Studien sichere Schlüsse über die Identität von gleichzeitig an einer und derselben Lokalität auftretenden Pilzformen ziehen, da es ja doch wohl möglich ist, daß an einem und demselben Berberitzenstrauche gleichzeitig eine Mehrzahl von Schwarzrostformen vorhanden gewesen sein könnte. Andererseits läßt es sich doch auch nicht bestreiten, daß die gleichzeitige Anwesenheit von Rost an der einen Grasart und die Abwesenheit desselben an der anderen Art uns wenigstens vermuten läßt, daß eine Rostform, die gelegentlich auf dieser letztgenannten Grasart an einer anderen Lokalität wahrgenommen worden ist, ihrem Wesen nach von derjenigen Rostform getrennt sein muß, die an jener zuerstgenannten Grasart vorkam. Diese Studien geben also einen guten Fingerzeig für eingehende Versuche, das wahre Wesen der Spezialisierung in dem untersuchten Gebiete kennen zu lernen.

Die an sämtlichen 36 Lokalitäten beobachteten schwarzrostigen Gräser waren 11 an der Zahl. Sie sind hier unten nach der Zahl der Lokalitäten, wo sie rostig beobachtet wurden, aufgenommen. Diese Zahl ist durch eine eingeklammerte Ziffer hinter der Art angegeben. Nach jeder Art folgt ein Verzeichnis derjenigen Grasarten, die an denselben Lokalitäten rein standen; auch diese reinen Fälle sind von eingeklammerten Ziffern begleitet.

Der Schwarzrost kam vor:

1) auf Dactylis glomerata (22), — aber nicht auf Briza media (15), Hordeum vulgare (13), Phleum Boehmeri (13), Brachypodium pinnatum (10), Festuca ovina (8), Melica ciliata (7), Festuca pilosa (5), Avena flavescens (4), Koeleria cristata gracilis (4), Festuca elatior (2) und Phleum pratense nodosum (2);

2) auf Poa nemoralis (18), — aber nicht auf Briza media (13), Festuca ovina (9), Phleum Boehmeri (8), Festuca pilosa (6), Hordeum vulgare (4), Koeleria cristata gracilis (4) und Festuca elatior (2).
3) auf Agrostis alba (15), — aber nicht auf Brachypodium pinnatum (10), Briza media (10), Melica ciliata (8), Hordeum vulgare (6), Phleum Boehmeri (6), Dactylis glomerata (4), Festuca elatior (4), Avena flavescens (3), Phleum pratense nodosum (3) und Setaria viridis (1);
4) auf Secale cereale (15), — aber nicht auf Briza media (10), Phleum Boehmeri (7), Festuca ovina (5), Dactylis glomerata (4), Festuca pilosa (4), Hordeum vulgare (4), Brachypodium pinnatum (3), Koeleria cristata gracilis (3), Melica ciliata (3) und Setaria viridis (2);
5) auf Agrostis vulgaris (6), — aber nicht auf Avena flavescens (4), Hordeum vulgare (4), Brachypodium pinnatum (3), Melica ciliata (3), Phleum Boehmeri (3), Briza media (2) und Phleum pratense nodosum (1);
6) auf Festuca ovina (6), — aber nicht auf Briza media (5), Hordeum vulgare (4), Brachypodium pinnatum (3), Melica ciliata (3), Avena flavescens (2), Phleum Boehmeri (2) und P. pratense nodosum (2);
7) auf Triticum glaucum (6), — aber nicht auf Brachypodium pinnatum (5), Briza media (5), Hordeum vulgare (5), Avena flavescens (4), Melica ciliata (4), Phleum Boehmeri (4) und P. pratense nodosum (3);
8) auf Festuca elatior (5), — aber nicht auf Hordeum vulgare (5), Brachypodium pinnatum (4), Briza media (4), Melica ciliata (4), Phleum Boehmeri (4), P. pratense nodosum (2) und Avena flavescens (1);
9) auf Lasiagrostis Calamagrostis (5), — aber nicht auf Hordenm vulgare (5), Melica ciliata (5), Brachypodium pinnatum (4), Briza media (4), Phleum Boehmeri (3) und P. pratense nodosum (2);
10) auf Apera Spica venti (4), — aber nicht auf Hordeum vulgare (4), Phleum Boehmeri (4), Brachypodium pinnatum (2), Briza media (2), Melica ciliata (2) und Phleum pratense nodosum (2); und
11) auf Triticum caninum (4), — aber nicht auf Brachypodium pinnatum (3), Briza media (3), Dactylis glomerata (3), Melica ciliata (3), Festuca elatior (2) und Setaria viridis (1).

Auf Grund der gemachten Beobachtungen rechnet Müller selbst die auf Dactylis glomerata wahrgenommene Form der f. sp. Avenae und die Form der Agrostis vulgaris zu der f. sp. Agrostis. Dagegen meint er, daß die Form auf Agrostis alba, Apera Spica venti, Festuca elatior, F. ovina,

Lasiagrostis calamagrostis, Poa nemoralis, Secale cereale, Triticum caninum und T. glaucum vielleicht jede für sich eine neue, selbständige „forma specialis“ sei. Außerdem glaubt er, daß Brachypodium pinnatum, Briza media, Koeleria cristata gracilis, Melica ciliata und Setaria viridis niemals Schwarzrost tragen können.

Inwiefern und in welchem Umfang die Schlußfolgerungen betreffend der Identität oder Nicht-Identität der in der Schweiz beobachteten Schwarzrostformen mit den in Schweden auftretenden richtig sein mögen, läßt sich nur durch speziell ausgeführte Infektionsversuche entscheiden. Uebrigens ist auch zu bemerken, daß aus Schweden eine reiche Erfahrung darüber vorliegt, daß Krankheitsausschläge nicht selten ausbleiben, wo man allen Grund hatte, solche zu erwarten (Eriksson, VI, 16—54), infolge dessen die Abwesenheit von Rostpusteln an gewissen Gräsern, gleichzeitig mit der Anwesenheit derselben an anderen, nicht unbedingt als ein Beweis für die Immunität jener zu betrachten ist.

Mit Rücksicht auf die angegebene absolute Immunität gewisser Grasarten gegen den Schwarzrost ist zu beachten, daß diese Rostart auf Brachypodium pinnatum in Krain von W. Voss und auf Briza media und Koeleria cristata in Schweden gefunden ist (Eriksson und Henning, II, 27—28). Es ist übrigens Carleton in Nordamerika gelungen, Schwarzrost auf die letztgenannte Grasart teils von Weizen, teils von Hafer überzuführen.

* * *

Nach dem oben über die Spezialisierung des Getreideschwarzrostes in Schweden und in anderen Ländern Angeführten dürfte man sagen können, daß die Frage von der Spezialisierung des Parasitismus in ein neues Stadium getreten ist. Das Phänomen der Spezialisierung steht nicht länger da als der Exponent eines dem Schmarotzer innewohnenden, launenhaften und unerklärlichen Triebes, neue Formen zu produzieren. Dieser Trieb wird durch die umgebenden Verhältnisse — die vegetative Unterlage und das Klima, — unter denen der Parasit lebt, in eine bestimmte Richtung geleitet. Wo eine gewisse Nährpflanzenspecies reichlich vorkommt und wo zugleich die klimatischen Verhältnisse für das Gedeihen des Pilzes günstig sind, da erreicht dieser eine größere Vollkommenheit. Die Ueberlegenheit kommt nicht nur durch eine im ganzen höhere innewohnende Lebenskraft (Vitalität) zum Vorschein, sondern auch durch einen höheren Grad von systematischer Festigkeit — die Form wird von parallel entstandenen Schwesterformen gut getrennt, d. h. „scharf fixiert“ — und durch eine überlegene Fähigkeit, auf solchen Grasarten, die früher davon unberührt waren, Nährboden zu finden und Verbreitung zu gewinnen. Ist aber der Vorrat an den erforderlichen Nährpflanzenspecies in einem Gebiete spärlich und findet sich die Pilzform noch dazu in der Peripherie ihrer natürlichen Verbreitungszone, dann wird auch die Entwickelung derselben

durchaus schwächer. Diese Schwäche zeigt sich in einer geringeren Selbständigkeit — die Form wird „nicht scharf fixiert" — und in der wesentlich beschränkten Fähigkeit, sich neue Wirtspflanzenarten zu erwerben.

Ist diese Auffassung richtig, wenn es den Schwarzrost gilt, so wird man wohl auch ihre Giltigkeit, in höherem oder niederigerem Grade, in anderen Fällen, wo eine Specialisierung wahrgenommen worden ist, vermuten dürfen[1]). Man wird wenigstens bis auf weiteres sich hüten müssen, das ganze Wesen und die Formerzeugung einer Pilzart als vollständig erforscht zu betrachten, sobald die Art in einem einzigen Lande untersucht worden ist. Die in einem Lande gewonnenen Resultate lassen sich nicht ohne weiteres als für alle Länder giltig erklären, besonders nicht wenn die Länder weit voneinander entfernt sind. Wir gewinnen damit auch eine Lösung der Widersprüche, die bei den Untersuchungen verschiedener Forscher über dasselbe Thema hervorgetreten sind.

Es ist noch zu früh, auf die praktische Bedeutung der Frage einzugehen. Man wird jedoch die Vermutung aussprechen können, daß ein so weit geführter und in sich so beschaffener Formenerzeugungstrieb, wie der hier besprochene, teils auch die Gefahr einer Krankheitsverbreitung von einem Lande nach einem anderen wesentlich vermindert, teils auch die Landwirte und die Forscher jedes Landes dringend dazu auffordert, in erster Linie den im eigenen Lande gemachten Erfahrungen zu vertrauen.

Experimentalfältet, Albano (Stockholm), den 15. August 1902.

Ueber Pasteurisieren und Sterilisieren der Milch im allgemeinen und über das Gerber'sche Verfahren und Pasteurisieren mit dem Bergedorf-Regenerativ-Erhitzer im besonderen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität München.]

Von Dr. **W. Rullmann** in München.

Das seinerzeitige Erscheinen von Flügge's[2]) so wichtigen Arbeit: „Die Aufgaben und Leistungen der Milchsterilisierung gegenüber den Darmkrankheiten der Säuglinge" gab Veranlassung zu erneuter Thätigkeit auf diesem Gebiete, da die nachgewiesenen Mängel der eingeführten Verfahren den Wunsch nach Besserem rechtfertigten.

Vor dem Eingehen auf neuere Errungenschaften sei es gestattet,

---

1) In Uebereinstimmung mit dieser Grundauffassung habe ich auch neulich gesucht, den auffallenden Umstand zu erklären, daß Phleum pratense eine selbständige Rostart (P. Phlei pratensis) hat, gewisse andere Arten der Gattung Phleum, wie P. Boehmeri, P. Michelii und P. asperum, dagegen von Puccinia graminis f. sp. Avenae angegriffen werden (Eriksson, VII).

2) Zeitschrift für Hygiene. Bd. XVII. 1894. p. 272—342.

nur einige der wichtigsten Punkte der ausführlichen Arbeit Flügge's und anderer Forscher in das Gedächtnis zurückzurufen.

Jn der citierten Arbeit bespricht Flügge die den damals bekannten Methoden anhaftenden Mängel und betont auch unsere Unkenntnis über die Einwirkung der nicht direkt pathogenen Bakterien auf den Kinderdarm und hebt besonders hervor, daß bei den verschiedenen Darmkrankheiten der Säuglinge spezifische Erreger vorhanden sein können, welche aus dem Gewirr der Faecesbakterien vorläufig nicht isolierbar sind und die noch lange Zeit verborgen bleiben können, weil sie in die inneren Organe nicht eindringen. Auch sei es denkbar, daß sich spezifische Infektionserreger unter einer jener Gruppen von Bakterien verbergen, von denen wir wissen, daß sie zahlreiche, äußerlich zwar ähnliche und für unsere Methoden kaum differenzierbare Varietäten enthalten, die jedoch in Bezug auf ihre pathogene Wirkung total verschieden sind.

Außerdem haben sich konstante typische Unterschiede zwischen normalem und pathologischem Kinderkote bakteriologisch noch nicht feststellen lassen. Ebenso ist Flügge's Anschauung sehr gerechtfertigt, wenn er sagt, daß Bakterien, welche normalerweise stets in der Nahrung resp. im Darme vorhanden sind, in größerer Zahl auftreten und dann toxische Stoffe in solcher Menge liefern können, daß krankhafte Erscheinungen ausgelöst werden. Auch bleibt die Frage offen, ob spezifische, schon in geringer Zahl infizierend wirkende Bakterien oder aber toxinbildende Saprophyten ausschlaggebend sind, ferner macht es die lokale und zeitliche Abhängigkeit der Darmerkrankungen von der Wärme und dem unbestreitbaren Einfluß der Kuhmilchernährung wahrscheinlich, daß toxinbildende und bei höherer Temperatur besonders üppig wuchernde Saprophyten es sind, denen bei Darmerkrankungen die Hauptrolle zufällt. Bewiesen ist ja durch viele Forscher, daß im Zusammenhang mit der Fütterung die Milchbakterien wechseln und verschiedenartige Gärungserreger auftreten, und so folgt ganz besonders im Sommer eine ausgiebige Vermehrung speziell von der Wärme abhängiger Bakterien. Derartige Erwägungen führen nach Flügge's Ansicht nur zu Vermutungen über das krankheitserregende Agens der Kuhmilch, da mit voller Bestimmtheit noch nicht die Bakterien derselben als Ursache der Säuglings-Darmkrankheiten anzusehen sind und die nur auf statistischem Wege gewonnenen Anhaltspunkte der experimentellen Bestätigung entbehren. Nach Mitteilungen der statistischen Erhebungen aus größeren Städten aus den Jahren 1886—92 geht Flügge noch weiter und sagt, daß von einem durch Zahlen nachweisbaren Effekt der modernen Sterilisationsverfahren auf Säuglingserkrankungen keine Rede sein könne, um so mehr als das Sterilisieren der Milch bisher noch zu wenig in die Kreise der ländlichen und ärmeren Bevölkerung eingedrungen sei, und gerade hier die Darmerkrankungen am häufigsten verbreitet sind. Ganz ähnlich äußert sich Weber[1]) in seiner vor 2 Jahren erschienenen Arbeit.

1) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesunheitsamte. Bd. XVII. 1900. p. 110.

Unbestreitbar sind mit der dem Sterilisationsprozesse unterzogenen Milch (in den allermeisten Fällen ist das Produkt durchaus nicht keimfrei) in Krippen, Kinderanstalten und Familien gute Resultate erzielt worden, aber sichere, auf großen Zahlen beruhende Beweise fehlen heute noch.

Außerdem warf Flügge damals die Frage auf, was das eigentlich Wirksame bei den eingeführten Sterilisationverfahren sei, da trotz des früher üblichen $^3/_4$ Stunde langen Erhitzens weder die Buttersäurebildner noch die Sporen von Heubacillen und andere Sporenbildner getötet wurden und daß dies Verfahren nicht mehr leiste, als ein kurzes, etwa 10 Minuten währendes Aufkochen der Milch, und auch Auerbach sieht die Buttersäureerreger als nicht ganz harmlose Insassen an. Um so wichtiger ist es, daß man heute zwischen ektogener und endogener Zersetzung zu unterscheiden hat; der ersteren, der Zersetzung der Milch vor Aufnahme in den Magen-Darmkanal des Säuglings, ist nach Ansicht verschiedener Kinderärzte eine geringere Bedeutung beizumessen als der endogenen Zersetzung, die erst im Magen-Darmkanal vor sich geht, da es sich bei ersterer nach Escherich[1]) um sauere, seltener um faulige, zur Entstehung von NH_3 und Toxinen führende Zersetzung handelt.

Gegen Verwendung von steriler Milch hat man verschiedene Bedenken, da tiefgreifende Veränderungen, wie Gerinnung des Albumins und Zersetzung des Lecithins, eintreten und der Zucker karamelisiert wird; diese Beeinflussung hat neuerdings Weber in seiner kurz vorher angeführten Arbeit zusammengestellt.

Sehr erschwerend zur Klärung der Frage, ob pathogen oder nicht pathogen, wirkt der Umstand, daß auf die meisten der aus pasteurisierter und dem Sterilisationsverfahren unterzogener Milch isolierten Bakterien der Tierkörper nicht reagiert und daß sich meist Toxine bilden, welche nur auf den menschlichen Säugling einwirken. Dann ergeben noch Flügge's Arbeiten, daß unter 12 genauer studierten peptonisierenden Bakterien 9 ohne Toxinwirkung waren, drei jedoch solche in unbestreitbarer Weise besaßen, da aber bekanntermaßen längerer Gebrauch von Albumosen und Pepton Darmreizungen hervorbringt, so ist nicht allein deren Verwendung bei Säuglingen schädlich, sondern auch die peptonisierenden Bakterien dürfte dieser Vorwurf treffen.

Wird eine Milch etwa 1 Stunde lang erhitzt und dann längere Zeit etwa bei 20—25° gehalten, dann ist zur Vermehrung der hitzebeständigen, also peptonisierenden und anaëroben Arten (letztere haben sicherlich großen Einfluß) die beste Gelegenheit und gerade solche Milch ist dann schädlich. Es muß also die Sterilisierung und Vorbehandlung der Säuglingsmilch unbedingt so geleitet werden, daß sie gegen die Gefahren der widerstandsfähigen anaëroben und peptonisierenden Arten Schutz gewährt, aber gerade hierauf ist bisher wenig Rücksicht genommen worden. Flügge stellt auf

---

1) Escherich, Die Bedeutung der Bakterien in der Aetiologie der Magen-Darmkrankheiten der Säuglinge. (Deutsche med. Wochenschrift. 1898. p. 40 u. 41.)

Grund langer Erfahrung fest, daß die Milch entweder wirklich absolut keimfrei sei und dies ist, wie wir bereits wissen und auch noch sehen werden, sehr schwer erreichbar und daher, weil auch zu kostspielig, für weitere Kreise nicht einführbar, oder die Milch muß durch kurzes Kochen von allen leicht zu tötenden Keimen befreit werden, dann aber, damit der Rest von widerstandsfähigen Sporen zu keiner Wucherung gelangt, bei einer Temperatur möglichst weit unter 20° aufbewahrt werden.

Gerade diese letzte so berechtigte Forderung Flügge's veranlaßte wohl Forster und Gerber zur Aufstellung ihres Verfahrens, und da der Verfasser dieser Zeilen Gelegenheit hat, durch die bakteriologische Kontrolle hiernach hergestellter Milch die Resultate einer längeren Beobachtung kritisch zu verwerten, so sei ein etwas genaueres Eingehen auf das Pasteurisierverfahren nach Gerber gestattet. — Auf die wichtige Thatsache aufbauend, daß Cholera-, Diphtherie-, Tuberkel- und Typhusbakterien bei längerer Einwirkung einer Temperatur von 65—70° C zu Grunde gehen, wurden diese Wärmegrade zur Behandlung der Milch gewählt und wird bei dem Gerber-Verfahren, wie es kurzer Hand genannt wird, möglichst genau darauf gesehen, daß keine Ueberschreitung dieser Temperatur statthat, da Duclaux zuerst nachgewiesen hat, daß gerade bei 70° Aenderungen im Geschmacke der Milch eintreten, die vermieden werden sollen und ferner auch bei dieser Temperatur noch keine ungünstige Beeinflussung des Eiweißes eintritt.

Der zur Darstellung dienende Apparat ist derart konstruiert, daß ein viereckiger, je nach dem Betriebe kleinerer oder größerer, auf Halbrädern ruhender Kasten mit Abteilungen versehen, die in sterile 0,5 Liter-Flaschen gefüllte Milch aufnimmt und eine besondere Klemmvorrichtung die Flaschenlagen festhält. Sodann läßt man Wasser bis zum vollständigen Bedecken der Flaschen eintreten und nachdem der durch Gummiauflagen dicht schließende Deckel aufgeschraubt ist, wird zur Erwärmung Dampf zugeleitet. Die Schüttelvorrichtung, welche entweder für Hand- oder Maschinenbetrieb eingerichtet ist, wird von dem Momente an in Gang gesetzt, in welchem das in sehr sinnreicher Weise angebrachte, in das Wasser des Kastens eintauchende Thermometer 67° zeigt, dann wird der Dampf abgestellt und der Kasten mit Inhalt genau ein Stunde lang geschüttelt. Die Temperatur steigt nach Dampfabstellung meist noch um 1—1,5° und hält sich, da der Kasten keine Wärme abgiebt, fast stets ein Stunde lang gleichmäßig, tritt aber ein Sinken ein, dann kann durch ein kurzes Oeffnen des Dampfhahnes die gewünschte Temperatur baldigst wiederhergestellt werden. Dann wird geöffnet die Milch thunlichst rasch abgekühlt und bis zum Verkaufe bei + 8—10° C gehalten. Täglich wird frische Milch diesem Verfahren unterzogen und kommt infolgedessen nur eine höchste 24 Stunden vorher dem Gerber-Verfahren unterzogene zum Verkaufe; viele der früher geäußerten und hier ausführlich geschilderten Bedenken dürften durch später mitgeteilte Resultate hinfällig werden.

Beim Beginn der Kontrolle hielt es der Verfasser für seine Pflicht, trotz der bereits bestätigenden Arbeiten von Lazarus[1]), Bitter[2]) und Hüppe[3]) auch selbst Milch mit den früher angeführten Bakterien zu besäen und dem Verfahren auszusetzen; daß die Resultate den bereits veröffentlichten vollkommen entsprachen, sei nur der Vollständigkeit halber erwähnt. Auch wurde Veranlassung genommen, die Probe mit Guajaktinktur und H_2O_2, welche nach Tjaden, Koske und Hertel[4]) zur Feststellung der Erhitzungsgrade zu empfehlen ist, nachzuprüfen; die Guajaktinktur wurde wegen Ungleichmäßigkeit käuflich bezogener selbst hergestellt, indem das Harz direkt vor dem Uebergießen mit Alkohol (Deutsches Arzneibuch) frisch gepulvert wurde und so ein vom Tage des Filtrierens bis zum Aufbrauchen gleichmäßig reagierendes Präparat erhalten, auf welches längeres oder kürzeres Stehen (bis zu 4 Monaten) keinen Einfluß hatte. Da die Reaktion unzweifelhaft auf der Gegenwart eines in der Milch enthaltenen Enzyms beruht, welches bei kürzerem oder längerem Erhitzen über eine bestimmte Temperatur zerfällt, so ist die mit der nach vorheriger Angabe hergestellte Tinktur für die Guajakreaktion mit H_2O_2 gerade zur Kontrolle des Gerber-Verfahrens zu empfehlen, zumal es mir gelang, durch mehrmalige Versuche eine feste Basis hierfür zu finden. Das dieser Reaktion zu Grunde liegende Enzym, für welches Raudnitz[5]) den Namen Superoxydase vorschlägt, während Loew die Bezeichnung Katalase für richtiger hält, wird durch Essigsäure oder Sättigung mit dem gleichen Volumen kalt gesättigten Ammonsulfates mit dem Casein ausgefällt, welch letzteres sich durch wiederholte Lösung in Alkali, Wiederfällung mittels Essigsäure, Auswaschen mit Alkohol und Aether von der Superoxydase befreien läßt. Tritt die Reaktion gar nicht oder nur sehr schwach ein, dann ist zu hoch erhitzt und die Milch zeigt einen starken Kochgeschmack, welcher bei genauem einstündigen Einhalten einer Temperatur von 68—69 ^{0} nicht wahrnehmbar ist.

In den diesbezüglichen Versuchen benutzte ich die Rohmilch aus einem besonders rein gehaltenen Stalle, die stets von der Molkerei zu Darstellung von Gerber-Milch verwendet wird. Mehrmalige Versuche ergaben, daß die Guajakreaktion bei Rohmilch nach einer Minute einritt, dieselbe Milch dann genau 1 Stunde nach der Gerber'schen Vorschrift unter stetem Umschütteln bei 70^0 gehalten, gab nach 3. Minuten kräftig blauen Ring, wurde aber nur 10 Minuten unter Umschütteln bis 75^0 erhitzt, dann trat selbst nach $1^1/_4$ Stunde keine Farbreaktion mehr auf. Wird die Mich aber beim Erhitzen auf 70^0 eine Stunde lang nicht geschüttelt, dann scheint infolge der Ungleichmäßigkeit der Wärmeeinwirkung sich das vorhandene Enzym teilweise rascher zu zersetzen, da jedenfalls an den Wänden des Gefäßes und in

1) Zeitschrift für Hygiene. Bd. VIII. p. 207.
2) Zeitschrift für Hygiene. Bd. VIII. p. 240.
3) Hygiene von Hüppe. p. 309—312.
4) Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XVIII. 1901. Heft 2.
5) Zeitschrift für Biologie von C. Voit. N. F. Bd. XXIV. 1901. p. 91 u. ff.

den oberen Schichten eine höhere Erhitzung statthatte, so daß die Blaufärbung erst nach einer Stunde in geringem Grade eintrat.

Um auch über die Haltbarkeit der Gerber-Milch Anhaltspunkte zu gewinnen, wurden von frisch aus der Molkerei erhaltener Rohmilch und Gerber-Milch Gelatine-Schalen von je 0,1 ccm gegossen und die beiden Milcharten dann sofort in den Eisschrank bei + 4,5—5,5 ° C gesetzt und dann täglich Kulturen angelegt.

Am Tage des Empfanges hatte

	Rohmilch	Gerber-Milch
13. Jan. 1902	21 120 Keime in 1 ccm	60 Keime in 1 ccm
14. " "	23 680 " " "	40 " " "
15. " "	121 080 " " "	30 " " "
16. " "	338 560 " " "	360 " " "
17. " "	unzählbare " " "	23 040 " " "
18. " "	nicht mehr untersucht	209 920 " " "
19. " "	" " "	unzählbar

Auch bei mehrfacher Wiederholung dieser Versuche ergab sich, daß die Gerber-Milch sich bakteriell bei derartiger Antbewahrung drei Tage unverändert hält und erst am 4. Tage die Zunahme an Keimen eine wesentliche ist; fast dasselbe Resultat konstatierte ich bei Aufbewahrung der Milcharten in einem kühlen Schranke von 10,5 ° C Durchschnittstemperatur.

Da mehrfach bewiesen ist, daß durch das Pasteurisierverfahren nach Gerber die früher erwähnten pathogenen Bakterien mit Sicherheit abgetötet werden, und aus der Zahl von 80 Untersuchungen, die ich vom 1. November 1901 bis zum 1. Juli 1902 ausführte, sich bei der dem Gerber-Verfahren unterzogenen Milch ein Durchschnittskeimgehalt von 59 Keimen in 1 ccm gegenüber 87125 Keimen der Rohmilch ergab, so kann, da auch der Geschmack der Milch ein tadellos reiner und bei kühler Aufbewahrung die Haltbarkeit für 2 Tage zweifellos ist, dieser Methode wohl eine gute Zukunft sicher sein. Angeführt sei noch, daß die zum Gerber-Verfahren benutzte Rohmilch im Maximum 280 000 und im Minimum 13 440, die Gerbermilch im Maximum 400 und im Minimum 10 Keime in 1 ccm enthielt, welch letztere geringe Zahl in der Reihe zweimal vorkam.

Diese Untersuchungen gaben Gelegenheit, die auf den Platten von Gerber-Milch entwickelten Kolonieen näher zu prüfen; die erzielten Resultate teile ich einstweilen unter dem Vorbehalte weiterer Ergänzungen bei der stattfindenden Fortsetzung der Untersuchungen mit. Da zum Plattengießen bei Gerber-Milch stets nur 0,1 ccm verwendet wird, so liegen in den meisten Fällen die Kolonieen, die sich übrigens immer erst nach 48 Stunden entwickelt haben, weit auseinander, können daher leicht makroskopisch besehen und abgeimpft werden. Gewöhnlich ist die Zahl der festwachsenden und der peptonisierenden Kolonien ziemlich gleich.

1) Als am meisten vorkommend, ist eine verflüssigende Art zu nennen. Gelatinestich bereits nach 48 Stunden an der Oberfläche verflüssigt unter Bildung einer scheidetrichterartigen, etwa 1,5 cm langen Vertiefung, welche gleichmäßig wolkig getrübt ist. Anfangs

weiß, dann grünlich fluorescierend. Form abgerundete Stäbchen von 0,5 μ Breite und 2—6 μ Länge, bildet Sporen! Für Meerschweinchen nicht pathogen. Wächst auf allen Nährböden.

2) Festwachsende kleine Kolonie. Gelatinestich nach 48 Stunden im oberen Drittel resp. Hälfte ziemlich breit und gelb gefärbt, der untere Teil wesentlich schmaler, gleichmäßig verlaufend, dann zugespitzt. Nach 12 Tagen hat sich der obere Teil des Stiches sackartig erweitert und eine intensive orange Farbe angenommen; nicht verflüssigend. Platten ergaben Kolonieen, welche nach 4 Tagen Farbstoff bildeten. In Zuckeragar keine Gärung, in steriler Milch bei 37° nach 6 Tagen keine Beeinflussung bemerkbar. Form plumpe, anisodiametrische Kurzstäbchen von 0,5 μ Breite und 0,7 μ Länge. Für Meerschweinchen nicht pathogen.

3) Festwachsende Kolonie: auf dünnbesäter Schale 2—3 Tage lang fest, dann beginnt Verflüssigung. Gelatinestich zeigt oberflächliche, sackartige Vertiefung, nach 3—4 Tagen wolkig getrübt, tieferer Teil nicht verflüssigt, sägeförmig gezackt und noch nach 10 Tagen farblos. Form außergewöhnlich dicke, 2,2 μ breite und 60—70 μ lange Fäden (also Fadenpilz) mit unechten Verzweigungen (Cladothrix) auf frischen Nährböden; auf alten Nährböden Zerfall der Fäden in kurze Glieder von 4,5—5 μ Länge.

4) Ein in ganz kleinen Kolonieen wachsender fakultativer Anaërobier, welcher auch aërob bei 22° sich rasch entwickelt und ganz besonders auf Gelatine, Glycerinagar und Blutserum einen starken Obstgeruch entwickelt, dagegen auf Peptonagar Fäulnisgeruch hat. In sterile Milch eingesät, erzeugt er gleichfalls Obstgeruch und bildet bei 37° in 48 Stunden Säure. Auf Gelatineplatten entwickelt er große und regelmäßig abgerundete, dann kleinere runde und ganz kleine tiefliegende Kolonieen. Während dieser fakultative Anaërobier, auf Peptonagar aërob gezüchtet einzelne Fäden bis zu 8 μ Länge bildet, hat er sonst meist nur eine Länge von 1,5 μ und 0,4 μ Breite und ist an den Ecken abgestumpft. Auf Gelatine aërob anisodiametrische, plumpe, dicke Kurzstäbchen, ohne Eigenbewegung, nach Gram nicht färbbar, nicht säurefest. Werden die farblos gewachsenen anaëroben Kulturen aërob hingestellt, dann beginnt nach 48 Stunden Bildung grünen Farbstoffes und leichte Verflüssigung tritt ein. Letzterer Umstand veranlaßte zum abermaligen Plattengießen und wurden 2 Varietäten isoliert. A) Kolonieform coliähnlich, bei 15° sich schleierartig ausbreitend, leicht granuliert, nach 4 Tagen grüne Farbe bildend, starker Obstgeruch, Belag trocken. Breite 0,4 μ, Länge 1,5—1,7 μ, endständige Sporen. B) Erhabene, runde Kolonieen, ohne schleierartige Ausdehnung, saftig glänzend, keine weitergehende Verflüssigung (ähnlich wie B. lactis aërogenes), bildet grüne Farbe. Breite 0,6 μ, Länge 0,5 μ; auf Glycerinagarstäbchen von 6—8 μ Länge, endständige Sporen, bildet stark Säure, aber keinen Obstgeruch.

5) Kleine braune Kolonieen aus dicken Kurzstäbchen bestehend, 1,5 μ Länge und 0,4 μ Breite mit abgerundeten Ecken, ohne Eigenbewegung und Sporenbildung.

6) Vereinzelte coliähnliche Kolonieen wachsen auch anaërob

und bilden plumpe Kurzstäbchen von 0,3 Länge und 0,25 Breite; färbbar nach Gram. Bildet in der Milch in 3—4 Tagen Säure und erzeugt gleichfalls Obstgeruch.

7) A. Proteus-ähnliche Kolonieen, welche auf Glycerinagar bei 37° rasch und reichlich wachsen. Stäbchen von 0,4 Breite und 6—8 μ Länge, abgerundet, bildet Sporen und hat lebhafte Eigenbewegung. Auf schief erstarrtem Agar in der ganzen Länge häutigen Ueberzug bildend, mit einzelnen herausragenden Stellen, welche etwas an Tuberkelbacillenkolonieen erinnern. Färbt sich nach Gram, ist aber nicht säurefest. Werden von diesen letzteren Stellen Uebertragungen B. auf Gelatine gemacht, so bilden sich allmählich etwas heraushebende ganzrandige oder nur ganz wenig ausgebuchtete Kolonieen. Mikroskopischer Befund wie bei A. Auf Agar ohne Pepton Sporen bildend. Lebhafte Eigenbewegung, färbbar nach Gram, nicht säurefest.

Dies sind die bisher hier aus Gerber-Milch isolierten Bakterien. Wenn nur bei den zwei zuerst beschriebenen Bakterien negativ verlaufene Tierversuche angeführt sind, so wurde die Prüfung auf Pathogenität resp. Toxinbildung auch später nicht versäumt, sondern es wurde öfters in Gerber-Milch, welche 3—4 Tage lang bei Zimmertemperatur gestanden hatte, Brot eingeweicht und weiße Mäuse damit gefüttert. Resultat negativ. Auch Weber[1]) hat in seinen Untersuchungen von 150 Flaschen Milch nur 3 gefunden, welche die von Flügge beschriebenen toxinbildenden Bakterien enthielten. Ihrem Wachstum nach gehören sie zu den Heubacillen und zeichnen sich dadurch aus, daß sie sich schon bei niederer Temperatur üppig vermehren und in Bezug auf die Reaktion des Nährbodens wenig wählerisch sind, da sie sowohl bei alkalischer als auch saurer Reaktion wachsen.

Im weiteren Verfolge von Flügge's Arbeit über die partielle Sterilisierung der Milch im Hause (p. 325 ff.) unternahm ich auf Veranlassung von Herrn Professor Dr. Martin Hahn in unserem Institute Versuche, zu denen Mettlacher Krüge benutzt wurden. Dieselben bestehen aus einem absolut gleichmäßig glasierten Material, sind von bauchiger Form, unten und oben sich etwas verengernd und werden mittels eines mit Charnier versehenen Deckels geschlossen. Der Verschluß ist derartig, daß eine Luftzufuhr während des Erhitzens statthat und dabei doch eine Infektion ausgeschlossen ist. Die nähere Beschreibung wird in Bälde durch Herrn Prof. Hahn selbst erfolgen. Inhalt der Krüge 1 l.

Beim ersten Versuch wurde der zu $^3/_4$ mit Milch gefüllte Krug bei schräg offenstehendem Deckel direkt auf Gas zum Kochen gebracht und eine Viertelstunde im Aufwallen gehalten und dann möglichst rasch auf 10° abgekühlt.

Die verwendete Rohmilch enthielt am 13. Februar in 1 ccm 19200 Keime, direkt nach dem Kochen mit 0,1 ccm gegossene Platte entwickelte = 0 Keime; dann blieb die Milch vom 13. bis 18. Februar bei Zimmertemperatur stehen und die täglich gegossenen Platten zeigten Keimfreiheit.

1) Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. XVII. p. 147.

Am 20. Februar kam eine Rohmilch mit 58240 Keimen zur Verwendung, jetzt wurde jedoch nur einmal aufgekocht, dann sofort von 0,1 Platte gegossen, welche nach 48 Stunden 120 Keime in 1 ccm zur Entwickelung gebracht hatte. Nach 2-tägigem Belassen dieser Milch bei Zimmertemperatur enthielt solche am 22. Februar in 1 ccm bereits 1200 Keime, nach 4 Tagen 3000 und nach 6 Tagen unzählige Keime.

Ein dritter Versuch kam mit 2 gleichartigen Krügen zur Ausführung, wobei die Krüge in geschlossenem Zustande $^3/_4$ gefüllt genau 15 Minuten bei $98{,}5^0$ C im Wasserbade gehalten wurden, in welchem sie bis zur oberen Verengerung der Krüge eintauchten; nach dem Plattengießen kam I sofort in den Eisschrank, während II nach dem Abkühlen auf 10^0 bei Zimmertemperatur (von ca. 15^0) blieb.

13. März	Krug I, Rohmilch, in 1 ccm	34560	Keime
nach $^1/_4$-stündiger Erhitzung auf 98,5 =		10	„ in 1 ccm
15. März	im Eisschrank aufbewahrt	20	„ „ „
17. „		20	„ „ „
20. „		20	„ „ „
24. „	Geschmack fast noch	20	„ „ „
30. „	tadellos, etwas fad	30	„ „ „

13. März	Krug II, Rohmilch, in 1 ccm	36480	Keime
nach $^1/_4$-stündiger Erhitzung auf 98,5 =		20	„ in 1 ccm
15. März	bei Zimmertemperatur gestanden	30	„ „ „
17. „		30	„ „ „
20. „		40	„ „ „
24. „	hierbei 20 verflüssigende Kolo-	300	„ „ „
30. „	nieen unzählbar, da alles verflüssigt war.		

Der so günstige Ausfall der vorstehend angeführten 3 Versuche mit Milch, welcher eine allgemeine Einführung der leicht zu reinigenden Krüge zwecks partieller Sterilisierung kleiner Milchmengen zum Verbrauche innerhalb 48 Stunden nahelegt, gab Veranlassung, diese Krüge auch zur Konservierung von reiner Bouillon und Suppen zu versuchen.

Am 28. April wurde Bouillon nach den gewöhnlichen Regeln der Kochkunst hergestellt und die eine Hälfte derselben sodann mit Suppenkräutern versetzt. In oben erwähnte Krüge gefüllt, wurden dieselben bei geschlossenem Deckel je 10 Minuten bei $98{,}5^0$ C gehalten und dann zur raschen Abkühlung in den Eisschrank gesetzt. Tags darauf wurden aus je 0,1 Platten gegossen und dann blieben beide Krüge bis zur Beendigung der Versuche stets bei Zimmertemperatur stehen. Inhalt je 0,5 l.

29. April Krug I, reine Bouillon, 0,1 = θ Keim
1. Mai „ I, „ „ 0,1 = θ „
29. April Krug II, Bouillon mit Kräutern 0,1 = θ Keim
1. Mai „ II, „ „ „ 0,1 = θ „ .

5. Mai Krug I, in 1 ccm = 13440 Keime; Krug II, in 1 ccm = 11520 Keime;
9. „ „ I, „ „ = unzählige; „ II, „ „ = 43520 „

Auch an diesem letzten Untersuchungstage war der Geschmack der beiden Flüssigkeiten ganz ungeändert und die Reaktion nur leicht sauer. Somit waren jedenfalls, trotz hoher Keimzahl, keine Fäulniserreger vorhanden.

Am 12. Mai folgten weitere Versuche mit Bouillon und erhielt Krug I bei der Bereitung Zusatz von Fleischextrakt, Krug II Maggi. Behandlung und Aufbewahrung genau wie im vorhergehenden Versuche.

12. Mai Krug I = θ Keime in 1 ccm; Krug II = θ Keime in 1 ccm
16. „ „ I = 20 „ „ 1 „ „ II = 30 „ „ 1 „
Geschmack in beiden Fällen tadellos.

Auch dieses Ergebnis ist als ein gutes zu bezeichnen und dürfte gerade durch die Konstruktion der Krüge bedingt sein, in dem in der oben angebrachten Verengerung das erstarrte Fett eine schützende Decke bildet.

Zurückkommend auf die Milchuntersuchungen, sind noch einige Erfahrungen zu erwähnen, welche sich aus der Kontrolle von Milchproben ergaben. So gelangte eine sogenannte seifige Milch hier zur Untersuchung, die aus einem Stalle stammt, dessen Besitzer schon lange vergeblich gegen die pekuniär so schwer schädigende Eigenschaft seiner Milch ankämpfte. Aus der Arbeit über seifige Milch von Weigmann und Zirn[1]) sind die ersten ausführlichen Daten hierüber zu ersehen. Die Autoren isolierten damals aus einer seifigen Milch 5 verschiedene Bakterienarten, deren wichtigster aber wohl der unter No. I beschriebene Bacillus lactis saponacei seine dürfte, da dieser nach genannten Mitteilungen als die eigentliche Ursache des Milchfehlers zu bezeichnen ist.

Dem Verfasser dieser Arbeit war es möglich, gleichfalls aus der erhaltenen seifigen Milch einen Bacillus zu isolieren, der dem von Weigmann und Zirn sehr ähnlich, aber nicht ganz gleich zu sein scheint und daher wohl als eine Varietät zu bezeichnen ist. Auf der Gelatineplatte bildet er sehr kleine, runde und ganzrandige Kolonieen, die anfangs Neigung zur Verflüssigung zu haben scheinen, doch hält sich eine Gelatineplatte mindestens 14 Tage ungeändert; in der Mitte jeder Kolonie zeigt sich bald ein gelbes Pünktchen und in 5 Tagen sind die Kolonieen vollkommen chromgelb, während bei dem Wachstum auf Kartoffeln bei 22° in 48 Stunden sich bereits prachtvoll gelbe kleine Kolonieen ohne Schleimigwerden in großer Menge gebildet haben. Temperaturoptimum + 12—15° C. Auf allen Nährböden wächst dieser Bacillus unter Bildung von feuchtglänzenden, meist feinkörnigen Kolonieen von lebhaft chromgelber Farbe innerhalb 5 Tagen; in Gelatinestich nimmt die Farbe vom 7. Tage an stark zu. Er bildet feine 0,8—3 μ lange und 0,2 breite Stäbchen, während der Weigmann'sche wesentlich plumper erscheint (0,4—0,5 breit und 1,6 μ lang ist) mit abgerundeten Ecken. Färbbar nach Gram, Eigenbewegung vorhanden. Ganz auffallend ist das Verhalten der Kulturen auf den Nährböden, da 2—3 Monate alte wie ganz frisch angelegte erscheinen, das saftig glänzende Aussehen vollkommen gleichmäßig bleibt und ein Eintrocknen nach dieser Zeit noch nicht wahrnehmbar ist.

Besäte sterile Milch blieb bei Zimmertemperatur, sowie bei 22°

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XV. 1894. p. 463 ff.

und 37°, äußerlich unbeeinflußt, nach 8 Tagen aber war bereits ein talgig-seifiger Geruch wahrnehmbar, der ganz besonders beim Verreiben von Milch auf der Handfläche hervortritt. Bleibt besäte Milch etwa 3—4 Wochen im Brutschranke stehen, dann nimmt sie eine dunkelgelbe Farbe an, während gleichzeitig eingesetzte unbesäte sterile Milch die Farbe nicht änderte. Bildet keine Säure in Milch und ruft in Zuckeragar keine Gärung hervor.

Nach dem Vorgang von Weigmann und Zirn wurden auch hier die in dem betreffenden Stalle verwendeten Futtermittel untersucht und unschwer war die Auffindung eines Bacillus aus benutztem Leinsamenmehl, während zwei Heuarten kein zu weiteren Untersuchungen anregendes Resultat ergaben. Dieser Bacillus wurde aus einer Einsaat von Leinsamenmehl in Bouillon und hiermit hergestellten Gelatineplatten als Reinkultur gewonnen. Er bildet kleine, festwachsende, runde und schwach granulierte Kolonieen, die aus kleinen, meist etwas gekrümmten, 0,3 breiten und 0,8—1,2 μ langen Stäbchen ohne Eigenbewegung, nicht färbbar nach Gram, bestehen (beides Unterschiede von B. lactis saponacei) Auch in frischem Zustande meist nur interrupt mit Karbolfuchsin (Polfärbung) färbbar. Er wächst auf allen Nährmedien sehr rasch unter Bildung eines feinkörnigen Belages, welcher nach etwa 8 bis 10 Tagen eine sich steigernde gelbliche Farbe annimmt, die jedoch die tinktoriale Kraft des Bacillus lactis saponacei nicht erreicht. Am intensivsten tritt solche beim Gelatinestich auf. Temperaturoptimum + 12—15° C. In Zuckeragar keine Gärung; eingesät in sterile Milch, bringt er weder bei 22° noch 37° Gerinnung hervor und die Reaktion ist noch nach 8 Tagen fast amphoter zu nennen, dagegen bildet sich in kurzer Zeit ein sehr widerlicher, talgigsaurer Geruch und Geschmack, der ja allerdings bei gleichlangem Verweilen reiner, steriler Milch bei 22 und 37° in ganz geringem Grade auch auftreten kann. Nach mehrmaligem Versuche ist aber eine sehr unangenehme Beeinflussung der Milch in Bezug auf Geruch und Geschmack durch diesen Bacillus zweifellos. Da derselbe noch nicht beschrieben zu sein scheint, so dürfte er als Bacillus farinae sem. lini I zu bezeichnen sein; derselbe ist ebenso wie der hier isolierte Bacillus lactis saponacei der Král'schen Sammlung in Prag übergeben.

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß bei den Versuchen mit Leinmehl noch ein zweiter Mikroorganismus, ein plumpes Kurzstäbchen, isoliert wurde, welches jedoch in Bezug auf Geschmack und Geruch keinen ungünstigen Einfluß auf die Milch ausübt; dasselbe bringt unter Gerinnung die Milch zur Säurebildung, vergärt jedoch nicht den im Zuckeragar befindlichen Traubenzucker. Hierüber behalte mir späteren Bericht vor.

Zu den oben angeführten Untersuchungen war das Vorhandensein einer absolut sterilen Milch unerläßlich, und da es immerhin denkbar war, daß die selbst dargestellte wirklich sterile Milch infolge des notwendigen öfteren Erhitzens, welches sich äußerlich durch Bräunung des Milchzuckers dokumentierte, an feiner Reaktionsfähigkeit eingebüßt habe, so entnahm ich dem hiesigen Depot einer

Schweizer Milchsterilisierungsanstalt eine Flasche zur Probe, die sich durch Nichtgebräuntsein des Inhaltes auszeichnete. Leider war dies auch der einzige Vorzug, da sie Bruttemperatur nicht einmal 48 Stunden aushielt und die ausgeschiedene Molke Zeugnis gab von dem Vorhandensein eines Säurebildners resp. Gärungserregers, welcher sich auch mit Leichtigkeit isolieren ließ. Auf Gelatine bildet er in 48 Stunden leicht verflüssigende Kolonieen, an B. subtilis erinnernd, ebenso im Gelatinestich; in gleicher Zeit erscheint in Bouillon ein nicht zusammenhängendes Häutchen, von welchem einzelne Partikel in der Flüssigkeit umherschwimmen. Auf Agarnährböden entsteht ein kohärenter, weißlich-grauer Belag und an den verdünnten Stellen legen sich kleine, abgerundete Kolonieen an. In Zuckeragar tritt innerhalb 24 Stunden eine in so energischer Weise noch nie beobachtete Gärung ein (Gegensatz zu dem jedenfalls verwandten B. subtilis). Auf Kartoffeln bei 22° farbloser, feuchtglänzender Belag mit zahlreichen end-, mittelständigen und freiliegenden Sporen; nach einigen Tagen bilden sich Erhöhungen, welche Gasblasen einschließen. Eigenbewegung fehlt, Gram'sche Färbung positiv. In vollkommen steriler Milch scheidet er in 48 Stunden ein klares Serum ab, in welchem ständig Gasblasen in die Höhe steigen. Einem Meerschweinchen einen Teil einer aufgeschwemmten Peptonagarkultur intraperitoneal injiziert, ergab keine nachteilige Beeinflussung. Breite 0,4 μ und Länge 3 μ, Sporenbildung sehr rasch eintretend.

Nach Mitteilung dieses Befundes an die Schweizer Gesellschaft, erhielt ich im Laufe mehrerer Wochen nacheinander 8 Flaschen frischen Fabrikates, doch zeigte sich auch hierbei in einer Flasche bei 37° wieder der eben beschriebene Säurebildner. — Anaërobe Kulturen ergaben nur aus einer Flasche ein Resultat, indem sich ein fakultativ anaërober Streptococcus resp. Streptobacillus innerhalb 4 Tagen in sehr kleinen Kolonieen bei 37° entwickelte. Aërob auf Gelatineplatten wächst er in zahlreichen, sehr kleinen, ganzrandigen und fein granulierten Kolonieen, auch bei Anlagerung in Halskettenform; in Bouillon bei 37° Trübung ohne Häutchenbildung. In Zuckeragar keine Gärung und in steriler Milch keine Aenderung. Für Meerschweinchen nicht pathogen.

Somit war das Resultat der Untersuchung der sterilen Schweizermilch kein günstiges, denn von 9 Flaschen waren 3 keimhaltig. —

Nach diesen Befunden scheint es wahrscheinlich, daß, ähnlich wie bei den in dieser Abhandlung geschilderten Professor Hahn'schen Krügen, so auch hier sich das im Flaschenhalse fest und dicht ausscheidende Milchfett als entwickelungshemmend für bestimmte Bakterienarten, besonders Aëroben, zeigt. Bei mangelnder Fettschicht würde eine keimhaltige Milch bald durch Caseïnausscheidung die ungenügende Sterilisation schon durch ihr Aeußeres dokumentieren, trat doch nach steriler Durchstoßung der Fettschicht die Zersetzung bei 2 Flaschen in kurzer Zeit ein.

Flügge's Untersuchungen von gekaufter steriler Mich (p. 319) zeitigten seiner Zeit sehr ungünstige Resultate, nicht besser aber sind die vor 2 Jahren von Weber[1]) ermittelten Ergebnisse, indem

1) Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVII. p. 113.

er angiebt, daß die Milch aus keiner der angeführten Milchwirtschaften sich in allen Proben als keimfrei erwiesen habe, und weiter, „die Prozentzahl der keimfreien Flaschen war bei den einzelnen Bezugsquellen eine sehr verschiedene, sie schwankte zwischen 5 Proz. und 86 Proz.“. Also Ursachen genug, um der sterilisierten Dauermilch nicht das Wort zu reden.

Ein großer Fortschritt im Molkereiwesen der neuesten Zeit besteht in der ständig zunehmenden Einführung der Hochdruck-Pasteurisier-Apparate resp. der Regenerativerhitzer. Dieselben verdanken ihr Entstehen der Erkenntnis, daß mit der Vermehrung der Molkereien sowohl auf dem platten Lande als auch in den Städten das Zusammenfließen der Milch aus den verschiedenen kleineren Bauernhöfen und den größeren Gütern nach einer gemeinsamen Verarbeitungsstelle und ebenso das Zurückströmen von dieser zu einer größeren Anzahl von Menschen und Tieren nicht unwesentliche Gefahren für die Volkswirtschaft in sich schloß. Diesen Gefahren suchte man dadurch zu begegnen, daß die Gesamtmenge der Milch während der Verarbeitung in den Molkereien der Einwirkung höherer Wärmegrade ausgesetzt wurde und damit eine Vernichtung pathogener Keime erfolgte. — Die erste größere Arbeit über die Einwirkung dieser neuen Erhitzungsart finden wir im Auftrage des kaiserlichen Gesundheitsamtes von Petri und Maasen[1]) „zur Beurteilung der Hochdruck-Pasteurisierapparate“ ausgeführt. Die nimmer rastende Technik aber suchte nach weiterer Verbesserung, und 1901 bereits veröffentlichte das Gesundheitsamt durch Tjaden, Koske und Hertel[2]) eine zweite schon erwähnte, sehr umfassende Arbeit über „die Frage der Erhitzung der Milch mit besonderer Berücksichtigung der Molkereien“.

Es ist nicht die Absicht, auf die sehr lesenswerte Arbeit hier des näheren einzugehen, nur sei kurz angeführt, daß in derselben die Leistungen von drei Arten der zuletzt konstruierten Regenerativerhitzer besprochen werden, da aber Verfasser Gelegenheit hat, die Leistungen eines dieser beschriebenen Erhitzer zu kontrollieren, so seien einige Daten hierüber in Kürze angeführt. Eine hiesige Molkerei teilt mir hierüber mit: „In dem hier im Betriebe befindlichen Bergedorf-Apparat erreicht die Milch innerhalb 10 Minuten den von uns gewünschten höchsten Erhitzungsgrad von 70° und bei $4^1/_2$ Atmosphären Druck passieren den Apparat in der Stunde rund 1150 l. Das Gesamtquantum ist je nach der momentanen Geschäftslage ein wechselndes. Die Reinigung des Apparates ist leicht durchführbar, da nach dem Gebrauche derselbe mit Sodalösung gefüllt wird, etwa 5 Minuten im Betriebe bleibt, dann geöffnet mit scharfer Wurzelbürste gründlich nachgereinigt und schließlich mit kaltem, reinem Wasser in großer Menge nachgespült wird. Der größte Teil der diesem Verfahren unterzogenen Milch wird zu Rahm verarbeitet und wird das Produkt von seiten des Publikums sehr gelobt. Seit Einführung dieses Apparates sind noch nie Klagen eingelaufen.“

---

1) Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XIV.
2) Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XVIII. Heft 2.

Meine Untersuchungen über den Keimgehalt der verwendeten Rohmilch und der pasteurisierten Milch erstrecken sich auf die Zeit vom 30. November 1901 bis 30. Juni 1902 und ergaben folgende Zahlen:

Bei 24 Untersuchungen ist der Durchschnittskeimgehalt der Rohmilch 296 000 Keime in 1 ccm,
bei 24 Untersuchungen ist der Durchschnittskeimgehalt der pasteurisierten Milch 20 134 Keime in 1 ccm,
dabei war die höchste ermittelte Keimzahl bei Rohmilch 560 000 und
die niedrigste „ „ „ „ 129 000;

während die höchste Zahl der durch Bergedorf-Apparat pasteurisierten Milch 72 320 Keime betrug und dies in den ersten Tagen, als der Apparat noch nicht genau reguliert war, betrug die niedrigste Keimzahl 50 in 1 ccm, welche Zahl in der kurzen Reihe 2mal vorkommt.

Naturgemäß kann diesen Resultaten wegen der vorläufig noch geringen Zahl von Untersuchungen, die aber fortgesetzt werden, kein großer Wert beigelegt werden, um so mehr als es geraumer Zeit bedurfte, bis der Apparat ganz regelmäßig arbeitete und die bereits erwähnten anfänglich großen Schwankungen unterblieben, aber eine sehr günstige Beeinflussung der erhitzten Milch ist außer allem Zweifel und hygienischerseits mit großer Genugthuung zu begrüßen.

Vorläufig war es mir nicht möglich, auch der Flora dieser pasteurisierten Milch eingehendere Aufmerksamkeit zu widmen und die wenigen isolierten Bakterien, von denen auch wieder einige fakultative Anaërobier, sollen bei späterer Gelegenheit beschrieben werden.

Einer Verwendung von Magermilch aber sei noch gedacht, welche bei allgemeiner Benutzung recht wesentlich zur Erzielung einer höheren Rente aus diesem schwer verwertbaren und in so großen Mengen abfallenden Nebenprodukte der Milchwirtschaft beitragen kann; es ist dies eine moussierende Magermilch. Die Gesellschaft „Adsella“ in Berlin hat seit diesem Frühjahr dieses mit einem leichten Citronengeschmacke oder einem anderen aromatischen Zusatze versehene Getränk zu äußerst billigem Preise eingeführt, welches ganz besonders bei heißer Jahreszeit sehr angenehm erfrischend wirkt. Dasselbe hielt sich selbst im angebrochenen Zustande, im Eisschranke vorzüglich über 8 Tage und zeigte nach dieser Zeit noch tadellosen Geschmack; in Zimmertemperatur war der Rest allerdings in 48 Stunden zersetzt. Die bakteriologische Untersuchung verlief resultatlos, da sich in 0,1 ccm keine Keime auf Gelatineschalen vorfanden und auch die innerhalb 8 Tagen wiederholt gegossenen Platten ohne jegliche Entwickelung blieben. Sollte die Herstellung dieses Getränkes eine weitverbreitete werden können, so würde dem konsumierenden Publikum und den Produzenten gleichmäßig ein großer Dienst erwiesen werden.

Zum Schlusse kommend, darf wohl die bestimmte Erwartung ausgesprochen werden, daß mit einer allgemeineren Einführung des Gerber-Verfahrens und der verschiedenen Regenerativ-

erhitzer eine wesentliche Verbesserung in der Milchversorgung eintreten wird, da aus den mitgeteilten Untersuchungsresultaten ersichtlich ist, daß durch diese neuen Verfahren jetzt dem Publikum Produkte geboten werden können, welche von vielen schädigenden Momenten befreit sind.

München, 29. Juli 1902.

Referate.

Chodat, R. und **Bach, A.**, Untersuchungen über die Rolle der Peroxyde in der Chemie der lebenden Zelle. Erste Mitteilung: Ueber das Verhalten der lebenden Zelle gegen Hydroperoxyd. (Berichte d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXV. 1902. Heft 7. p. 1275.) Zweite Mitteilung: Ueber Peroxydbildung in der lebenden Zelle. (Ebenda, Heft 13) p. 2466).

1) Nach Bach gehört die Peroxydbildung, welche infolge der langsamen Oxydation der oxydablen Körper bei der Einwirkung von molekularem Sauerstoff in der Zelle statthaben soll, zu den konstanten Faktoren, die, wie Licht, Wärme u. s. w., in dem Leben der Zelle eine bestimmte Rolle spielen, und denen die lebende Zelle sich in bestimmter Weise anpassen muß; die Peroxydanpassung gestaltet sich als eine Fähigkeit, durch die Vermittelung von Diastasen einerseits Hydroperoxyd katalytisch zu zerlegen, andererseits dasselbe zu aktivieren; die betreffenden Diastasen sind die Katalase und die Peroxydase. Da die Katalase Hydroperoxyd mit großer Energie und völlig zersetzt, so schloß daraus Loew, daß sie als Schutzmittel fungiert, welches die Zerstörung von jeder Spur bei den Oxydationsprozessen etwa entstandenen Hydroperoxyd bezweckt. Nach Loew soll das H_2O_2 ein heftiges Protoplasmagift sein, welches die labilen Atomgruppen des lebenden Protoplasmas durch Oxydation verdichte; deshalb hält Loew auch die Bach'sche Peroxydtheorie der Sauerstoffaktivierung in der lebenden Zelle für unhaltbar. Durch geeignete Versuche konnten die Verff. nun darthun, daß reines Wasserstoffsuperoxyd in nicht allzu konzentrierter Lösung kein Protoplasmagift ist, da sich darin gewisse niedere Pflanzen nicht nur am Leben erhalten, sondern auch zu reichlicher Entwickelung gelangen können. Von 3 untersuchten Pilzen erwies sich Penicillium glaucum als der gegen H_2O_2 empfindlichste; Nährböden, welche mehr als 20 mg aktiven Sauerstoff in 25 ccm enthielten, blieben steril; bei geringerem Gehalt trat nach einem gewissen Inkubationsstadium gute Entwickelung ein. Rhizopus nigricans versagte bei mehr als 30 mg aktivem Sauerstoff in 25 ccm (= 0,25 Proz. H_2O_2), während Sterigmatocystis nigra noch bei einem Zusatz von mehr als 1 Proz. H_2O_2 zur vollen Entwickelung kommen kann; in einer Nährflüssigkeit mit konstantem Peroxydgehalt = 0,68 Proz. H_2O_2 (es wurde täglich die der entwickelten Menge Sauerstoff ent-

sprechende Menge H_2O_2 zugegeben) kam ebenfalls Sterigmatocystis zur guten Entwickelung. Bemerkt muß werden, daß in dem gleichen H_2O_2-haltigen Nährboden (Raulin'sche Flüssigkeit) ohne Pilzzusatz keine nennenswerte Sauerstoffentwickelung stattfindet.

Daß das H_2O_2 kein Protoplasmagift ist, wurde weiter durch Plasmolyse bestätigt. Bis 1 Proz. H_2O_2 enthaltende Kaliumnitratlösungen riefen in Pflanzenzellen (Lebermoosen) eine durchaus normale Plasmolyse hervor; bei mehr als 1 Proz. H_2O_2 wird nach vorhergehender Plasmolyse die Protoplasmastruktur mehr oder weniger rasch vernichtet; merkwürdigerweise findet noch in einer 10-proz. H_2O_2-Lösung (ohne Kaliumnitratzusatz) eine schnell vorübergehende Plasmolyse statt.

Die Rolle der Peroxyde in der Chemie der lebenden Zelle ist nach den Verff. eine zweifache: Sie dienen als eigentliche Oxydationsmittel für schwer oxydierbare Bestandteile der Zelle und als Ueberführer von chemischer Energie und Wärme. Die in der lebenden Zelle häufig vorkommende Peroxydase, welche H_2O_2 aktiviert und mit diesem zusammen in Guajactinktur Blaufärbung hervorruft, kann vielleicht die Verbrennung von schwer oxydierbaren Bestandteilen durch Peroxyde, welche an und für sich relativ schwache Oxydationsmittel sind, bewirken.

2) Weitere Versuche, vor allem mit dem stark oxydasehaltigen Safte von Lathraea squamaria, lehrten, daß die Peroxydbildung durch die Anwesenheit von Oxydase bedingt ist. Die frische oxydasehaltige Pflanze ist imstande, direkt Jod aus Jodkalium freizumachen, also Jodkaliumstärkepapier beim Betupfen mit dem frisch durchschnittenen Stengel zu bläuen (bei schwach saurer Reaktion des Pflanzensaftes tritt die Bläuung erst ein, wenn das Papier nach dem Berühren mit dem Schnitte mit verdünnter Essigsäure bestrichen ist). Während der ausgepreßte Saft sehr rasch die Fähigkeit verliert, direkt Jodkaliumstärkepapier bez. Guajaktinktur, zu bläuen, behält er lange die Eigenschaft, nach Zusatz von H_2O_2 diese Färbung auf Jodkaliumstärke bezw. Guajaktinktur hervorzurufen; die Peroxydase scheint demnach viel beständiger, als die Oxydase zu sein. Durch Plasmolyseversuche an Kartoffelscheiben konnten die Verff. darthun, daß Peroxydbildung auch während des Lebens der Zelle stattfindet.

Wesenberg (Elberfeld).

Loew, Oskar, Spielt Wasserstoffsuperoxyd eine Rolle in der lebenden Zelle? (Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. XXXV. 1902. Heft 13. p. 2487.)

Im Anschluß an die erste Mitteilung von Chodat und Bach (vergl. das vorstehende Referat) weist Loew darauf hin, daß vor allem erst die Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd in den in H_2O_2-haltigen Nährböden gewachsenen Pilzen absolut sicher dargethan werden müßte, ehe der Schluß, daß Wasserstoffsuperoxyd kein allgemeines Protoplasmagift sei, gerechtfertigt erscheint; die an Katalase reichen Pilze könnten das in die Zellen eindringende H_2O_2 sehr leicht zerstören, während an Katalase arme Organismen in-

folge Protoplasmastörungen zu Grunde gingen. Die Katalase, welche noch in einer Verdünnung 1:50000 auf H_2O_2 zersetzend einwirkt, wird selbst durch dieses erst bei weit höherer Konzentration des H_2O_2 geschädigt. Während Loew einerseits Chodat und Bach vollständig beistimmt, wenn sie folgern, daß H_2O_2 ein Nebenprodukt bei der Respirationsarbeit des Protoplasmas sei, muß er im Hinblick auf die Thätigkeit der in den Zellen vorhandenen Katalase jenem Superoxyd jede weitere physiologische Bedeutung absprechen. Wesenberg (Elberfeld).

Bokorny, Th., Tauglichkeit einiger Stickstoffsubstanzen zur Hefenernährung, quantitative Versuche hierüber. (Allgem. Brauer- u. Hopfen-Ztg. März 1902.)

Die Stickstoffernährung der Hefe spielt bei deren Züchtung wie bei der technischen Verwendung als Gärungserreger eine erhebliche Rolle. Es fragt sich, welche Stickstoffverbindungen verwendet werden können und in welchem Maße?

Um länger dauernde Ernährungsversuche mit Hefe anstellen zu können, müssen entweder Reinkulturen angewendet und infektionssicher weitergezüchtet werden, oder man muß der Hefe einen gärfähigen Zucker darbieten. Durch letzteres werden die Hefezellen beständig schwebend erhalten und die sonst so leicht sich einstellenden Bakterien oder Schimmelpilze ziemlich ausgeschlossen, weil ihnen Alkohol in größerer Menge ungünstig ist; auch ist es gut, die Hefe von vornherein in nicht zu kleiner Quantität zuzusetzen, damit sie den Vernichtungskampf gegen Schimmel- und Spaltpilze leichter bestehe.

So kann man die Versuche tagelang, sogar bei Brüttemperatur rein erhalten.

Will man keinen gärfähigen Zucker darbieten, so bleibt nichts anderes übrig, als (filtrierte und desinfizierte) Luft durchzuleiten während der ganzen Versuchszeit; dadurch kann man das Bakterienwachstum auf einige Tage abhalten, wenn die Hefe in großem Ueberschuß ist, wie es ja bei guter Preßhefe der Fall ist; auch wird damit eine ununterbrochene Sauerstoffatmung der Hefe herbeigeführt und die zur Assimilation nötige Energie gewonnen.

Es war zunächst von Interesse, die Assimilationsleistung der Hefe bei ausschließlicher Sauerstoffatmung und die bei bloßer intramolekularer Atmung (Gärung) zu vergleichen. Zu beiden Versuchen wurde die günstigste organische Hefenahrung, die es giebt, nämlich Pepton, verwendet. Rohrzucker wurde in einem der beiden Versuche als Gärmaterial zugefügt, außerdem in beiden Fällen die nötige Mineralsubstanz, um eine ausgiebige Zunahme der Hefe zu ermöglichen. Die Versuchszeit betrug 2 Tage. (Siehe Versuche 1 u. 2 p. 675.)

Die Trockensubstanzbestimmung der in beiden Versuchen kräftig gewachsenen Hefe ergab bei Versuch 1 0,88 g, bei Versuch 2 0,80 g.

Da 1 g meiner Hefe von vornherein nur 0,31 g Trockensubstanz aufwies, so ist klar, daß in beiden Versuchen eine sehr be-

Versuch 1.

Wasser	50,0 g
Rohrzucker	5,0 „
Pepton (Fleisch-)	1,25 „
Monokaliumphosphate	0,2 „
Bittersalz	0,05 „
Hefe	1 „

Versuchsfläschchen bei Zimmertemperatur mit Watteverschluß 2 Tage aufgestellt.

Versuch 2.

Wasser	50,0 g
Pepton (Fleisch-)	1,25 „
Monokaliphosphat	0,20 „
Bittersalz	0,05 „
Hefe	1 „

Versuchsfläschchen mit Gummipfropfen verschlossen, durch dessen 2 Bohrungen ein Zuleitungs- und ein Ableitungsrohr ging; die zuvor gereinigte Luft ging in langsamem Strome durch die Nährflüssigkeit (bis auf den Grund) und entwich dann. Die Hefe wurde dadurch immer wieder aufgerührt.

deutende Trockensubstanzvermehrung stattgefunden hat. Nahezu verdreifacht hatte sich die Trockensubstanz binnen 2 Tagen.

Die gärende Flüssigkeit ergab ein um etwas, aber nicht viel besseres Resultat als die mit Luft durchströmte. Die Alkoholgärung ist also eine vorzügliche Energiequelle für Hefe und leistet in Bezug auf Anregung und Unterhaltung der Assimilationsthätigkeit sogar etwas mehr als die Sauerstoffatmung (wenn der Versuch nur 2 Tage dauert!).

Wie außerordentlich günstig das Pepton gegenüber anderen Stickstoffquellen wirkt, mag aus folgenden Versuchen entnommen werden:

a)

Wasser	250 g	
Rohrzucker	25 „	
Asparagin	6,25 „	(d. i. 2,5 Proz.)
Monokaliphosphat	1,25 „	
Bittersalz	0,25 „	
Hefe	1 „	

b)

Wasser	250 g	
Rohrzucker	25 „	
Pepton (Fleisch-)	6,25 „	(d. i. 2,5 Proz.)
Monokaliphosphat	1,25 „	
Bittersalz	0,25 „	
Hefe	1 „	

c)

Wasser	250 g	
Rohrzucker	25 „	
Ammonsulfat	1,25 „	(d. i. 0,5 Proz., die günstigte Konzentration des Ammonsalzes).
Bittersalz	0,25 „	
Monokaliphosphat	1,25 „	
Hefe	1 „	

Nach 2tägigem Stehen bei 30° wurde die Hefe gesammelt, gewaschen und die Trockensubstanz bestimmt. Diese Bestimmung bestätigte die Richtigkeit des Augenscheines, wonach in allen 3 Fällen die Hefemasse zugenommen hatte.

a) ergab 0,62 g Trockensubstanz, b) 0,88 g, c) 0,55 g. Die ursprüngliche Trockensubstanz von 1 g der angewandten Hefe hatte 0,31 g ergeben. Also war eine bedeutende Zunahme binnen 2 Tagen erfolgt, am meisten bei Peptonnahrung, wo fast das dreifache Trockengewicht erreicht wurde, während bei Asparaginnahrung das Doppelte eben erreicht, bei Ammonsalzdarreichung nicht ganz erreicht wurde.

Bemerkt sei noch, daß bei allen 3 Versuchen die Hefe rein von Bakterien geblieben war; auch der Peptonversuch zeigte bei mikroskopischer Untersuchung nur Hefezellen; keine Spur eines Fäulnisgeruches war aufgetreten. Offenbar hatte die Gärung und die damit verbundene Alkoholbildung der Hefe das dauernde Uebergewicht über die Bakterien verschafft. Sonst (bei mangelnder Gärung) tritt infolge des Peptonzusatzes, auch wenn ganz gute Hefe genommen wird, sehr rasch Fäulnisgeruch ein.

Weiter geprüft wurden vom Verfasser noch folgende Substanzen: Asparaginsäure, Tyrosin, Leucin (beide in keimenden Samen enthalten, in deren Extrakt die Hefe gezogen wird), Fleischalbumose (Somatose), Glykokoll.

Eine tabellarische Zusammenstellung möge die Resultate darlegen.

Hefeart	Zur Ernährung angew. Stickstoffsubstauz	Angewandte Hefemenge	Trockensubstanz in 1 g Hefe vor dem Versuche	Trockensubstanz in 1 g Hefe nach dem Versuche (nach 2 Tagen).
Preßhefe aus Brauereien	Glykokoll	1 g	0,33 g	0,40 g
„	Tyrosin	1 „	0,33 „	0,52 „
„	Leucin	1 „	0,33 „	0,61 „
„	Asparaginsäure (statt PO_4KH_2 wurde das alkalische PO_4K_2H zugesetzt, um die Säure abzuschwächen)	1 „	0,33 „	0,52 „
„	Asparagin	1 „	0,31 „	0,61 „
„	Pepton (bei Zuckerzusatz)	1 „	0,31 „	0,88 „
„	Pepton (ohne Zucker, unter beständiger Sauerstoffdurchleitung)	1 „	0,31 „	0,80 „
„	Albumose aus Fleisch (Somatose)	1 „	0,33 „	0,30 „ (Rückgang durch das Nichteindringen der Somatose bedingt)
„	Ammonsulfat	1 „	0,31 „	0,35 g

Autoreferat.

Bokorny, Th., Ueber die Assimilationsenergie einiger Pilze, verglichen mit der grüner Pflanzen. (Pflüg. Arch. 1902. März.)

Viele Pilze zeichnen sich, wie durch Naegeli bekannt geworden ist, durch ihre Fähigkeit, eine große Zahl von organischen

Stoffen als Nahrung benutzen zu können, aus. Abgesehen von den Eiweißstoffen, assimilieren sie alle möglichen Kohlehydrate, ferner Alkohole, Säuren (letztere nach entsprechender Neutralisation), Aldehyde, Ketone etc. Im großen und ganzen werden Stoffe der Fettreihe leichter assimiliert als solche der Benzolreihe; offenbar sind letztere wegen ihres festeren Gefüges schwerer zu spalten, und eine Spaltung bis zu einfachen Atomkomplexen muß ja wohl der Assimilation vorausgehen, begleitet von Oxydations- oder Reduktionsvorgängen, weil immer ein und derselbe Eiweißstoff, ein und dasselbe Kohlehydrat von jedem Pilzorganismus gebildet wird. Die Verwendung so verschiedenartiger Stoffe als Ganzes zum Aufbau von Eiweiß und Kohlehydrat ist natürlich ausgeschlossen.

Ebenso staunenswert wie diese Vielseitigkeit des Pilzorganismus ist aber auch die Quantität der Assimilation, worin die grünen Pflanzen bei weitem von den Pilzen übertroffen werden.

Wer je eine Alge in Nährlösung gezogen und ihre geringe Zunahme beobachtet hat, ist überzeugt von der überlegenen Assimilationskraft der Pilze. Wie rasch bilden sich in geeigneten Nährsubstraten große Pilzrasen, auch wenn man gar keine Pilzsporen ausgesät hat. Die wenigen Pilzsporen, welche aus der Luft anfliegen, wachsen binnen wenigen Tagen bis zum sichtbaren, centimetergroßen Pilzrasen heran.

Aber nur quantitative Versuche können über das wirkliche Maß der Assimilation Aufschluß geben.

Schon Naegeli hat einige derartige Versuche angestellt.

„Enthält die Nährlösung 9 Proz. (Rohr-) Zucker, 1 oder 0,5 Proz. neutrales weinsaures Ammoniak und etwas mit Phosphorsäure neutralisierte Hefenasche, und wird diese Lösung je nach 2 Tagen erneuert, so kann während der ersten 4 Tage die Hefe sich auf das 4fache Gewicht vermehren."

„Ja es läßt sich das Gewicht der Bierhefe mit Zucker und weinsaurem Ammoniak während 64 Stunden auf das 12fache vermehren, wenn man den Versuch im Brütkasten aufstellt und Luft durchleitet."

„Doch erleiden selbst unter den allergünstigsten Bedingungen die Sproßpilze, die den Stickstoff bloß in Form von Ammoniak erhalten, eine zunehmende Schwächung und gehen ihrem sicheren Untergang entgegen." (Naegeli, Münchener Akad. d. Wiss. 1879. 5. Juli.)

„Wird der Zutritt der Luft verhindert, so vermögen Ammoniaksalze mit Zucker die Sproßpilze zwar noch durch viele Generationen zu ernähren, aber die Vermehrung ist jetzt eine viel geringere und hört infolge von Erschöpfung nach viel weniger Generationen auf als bei Zutritt von Sauerstoff.

Das Gesagte gilt für alle Ammoniaksalze, wobei indessen zu bemerken ist, daß, wenn dieselben für sich allein die Sproßpilze ernähren sollen, das weinsaure, citronensaure, bernsteinsaure Salz günstiger wirkt als das essigsaure, und dieses günstiger als das

salicylsaure und benzoësaure Ammoniak. Befindet sich aber Glycerin oder Zucker in der Nährflüssigkeit, so verhalten sich die verschiedenen Ammonsalze fast gleich, insofern sie nicht antiseptisch wirken; auch das salpetersaure Ammoniak giebt keine ungünstigeren Resultate als die übrigen."

Ueber die Wirkung von Säuren auf die Hefeernährung äußert sich Naegeli, daß man damit sehr vorsichtig sein müsse. So erwiesen sich beispielsweise 0,8 Proz. Citronensäure in einer 9-proz. Zuckerlösung, welche 0,5 Proz. neutrales citronensaures Ammoniak und etwas Hefenasche enthielt, als schädlich. Die Vermehrung der Sproßzellen war in diesem Falle äußerst träge; sie dauerte in mehreren Versuchen nach 2 Jahren noch fort; es hatte sich in dieser langen Zeit äußerst wenig Hefe gebildet und es war fast kein Zucker durch Gärung verschwunden. Schädlicher noch soll freie Essigsäure wirken.

Die reinen Kohlenstoffquellen (die nicht zugleich Stickstoffnahrung sind) hat N. in folgende Stufenleiter gebracht:

1. Die Zuckerarten (sie ernähren am besten);
2. Mannit, Glycerin;
3. Weinsäure, Citronensäure, Bernsteinsäure;
4. Essigsäure, Aethylalkohol, Chinasäure;
5. Benzoësäure, Salicylsäure;
6. Phenol.

Leider giebt N. meist die Quantität der Assimilation innerhalb einer bestimmten Zeit und bei bestimmter Aussaatmenge nicht an; er sagt nur, die Pilzvegetation sei am Schlusse des Versuches (nach Tagen, Monaten, Jahren?) dem Augenschein nach reichlich, spärlich etc. gewesen.

Reichlicher sind quantitative Angaben bei den Versuchen über Ernährung mit verschiedenen Stickstoffquellen zu finden.

Naegeli giebt z. B. an, daß bei Ernährung mit

0,47	Proz.	Ammontartrat,
0,005	„	Ammonsulfat,
9	„	(Rohr)zucker,
0,035	„	Dikaliumphosphat,
0,006	„	Magnesiumsulfat,
0,0015	„	Calciumchlorid

eine Hefemenge von 0,732 g Trockensubstanz binnen 10 Tagen — unter 3maliger Erneuerung der Nährflüssigkeit — bei 25—30° sich auf 2,836 g Trockensubstanz vermehrte.

Bei Nitraternährung (mit Natron- und Calciumnitrat) erfolgte keine Vermehrung der Stickstoffsubstanz der Hefe, sondern nur geringe Cellulosezunahme.

Die Hefepilze sind bekanntlich mit Nitraten nicht fortzubringen, weil die bei der Verwendung derselben als Uebergangs-Reduktionsprodukt sich bildende salpetrige Säure sie schädigt.

Spaltpilze assimilieren nach Naegeli und Loew die Nitrate. In einer Nährlösung von

Wasser	200	g
Dikaliumtartrat	5	„

Natriumnitrat	2	g
$MgSO_4$	0,08	„
$CaCl_2$	0,02	„
K_2HPO_4	1,0	„

wuchsen — ohne Aussaat — binnen 8 Wochen Spaltpilzkolonieen vom Gewichte 0,113 g. Die Salpetersäure war teils zu salpetriger Säure, teils zu Ammoniak reduziert worden, welch letzteres sich als Karbonat in der Flüssigkeit befand.

Schimmel vermag Nitrate zu assimilieren, salpetrige Säure läßt sich aber als Zwischenprodukt bei der Reduktion zu Ammoniak (eine solche muß zweifellos stattfinden, weil das Eiweiß den Stickstoff als Amidogruppe NH_2 enthält) nicht nachweisen.

In einer Nährlösung von

Wasser	400	g
Glycerin	30	„
K_2HPO_4	0,80	„
$MgSO_4$	0,06	„
$CaCl_2$	0,02	„
Natriumnitrat	3,20	„
Essigsäure	1,00	„

wuchs (binnen welcher Zeit?) von selbst eine Schimmelvegetation von 1,770 g Gewicht.

In einer ähnlichen Lösung, welche statt des Natriumnitrates eine äquivalente Menge Harnstoff enthielt, wuchs sogar 3,519 g Schimmel. Bei Anwendung von Ammonnitrat als Stickstoffquelle nur 1,655 g Schimmel Erntegewicht.

Auch Methylamin (oder Aethylamin) dient den Schimmelpilzen als Stickstoffnahrung. Die Vermehrung ist eine sehr beträchtliche, wenn Zucker als Kohlenstoffquelle gegeben wird. Nach Naegeli und Loew wächst in einer Nährlösung von:

Wasser	200	g
Salzsaures Methylamin	2,5	„
Dikaliumphosphat	0,25	„
$MgSO_4$	0,08	„
$CaCl_2$	0,02	„
Phosphorsäure	1,25	„
Zucker	12	„

binnen 41 Tagen 3,230 g Schimmel (als Trockensubstanz bestimmt).

Auch Spaltpilze verarbeiten diese organischen Stickstoffquellen.

Ein von dem Verf. in jüngster Zeit angestellter Schimmelernährungsversuch mit Glycerin als Kohlenstoff- und Ammon als Stickstoffquelle ergab Vermehrung der Trockensubstanz aufs Tausendfache binnen 5 Wochen!

Einige neue Versuche des Verf.'s über die Assimilationsenergie der Hefe wollen im Original nachgesehen werden.

Versuche mit Algen in verdünnten organischen Lösungen ergaben, daß auf 1 g Spirogyrentrockensubstanz binnen 10 Tagen 168 mg Glycerin und binnen 5 Tagen 66,4 mg ver-

braucht wurden; bei formaldehydschwefligsaurem Natron binnen 10 Tagen 115 mg oder 96,6 mg.

Der Verbrauch des Glycerins ist etwas stärker, vielleicht deswegen, weil das formaldehydschwefligsaure Natron erst gespalten werden muß, um Verwendung zu finden.

Ob die genannten Substanzen ausschließlich zur Assimilation dienten oder auch teilweise veratmet wurden, ist nicht festgestellt worden.

Nimmt man das eine oder andere an, so läßt sich ausrechnen, daß etwa 100 Tage verstreichen würden, bis die Alge ebensoviel Glycerin oder formaldehydschwefligsaures Natron verbraucht als ihre Trockensubstanz beträgt. Ferner ergiebt sich, daß 100 kg genannter Algen (feucht gewogen) binnen einem Tage etwa 100 g organische Nahrung (wie Glycerin) verbrauchen.

Daß auch Trockensubstanzvermehrung stattfindet, wurde durch folgende Versuche bewiesen.

Abgewogene Mengen von Spirogyra wurden in kohlensäurefreiem Raum bei Lichtzutritt kultiviert. Um bestimmte Mengen von Spirogyra zum Versuche verwenden zu können, wurde eine größere, möglichst reine Algenmenge auf einen Seiher gut ausgewaschen (zur möglichsten Entfernung von Spaltpilzen und Infusorien), dann abtropfen gelassen und zwischen mehrfachen Lagen von Fließpapier ausgebreitet zur Entfernung anhängenden Wassers. Dann wurden hiervon zahlreiche Proben von je 2 oder 5 oder 10 g auf einer empfindlichen Handwage rasch abgewogen und verwendet. Immer wurde von 2—3 oder mehr Proben sogleich eine Trockensubstanzbestimmung gemacht; die Proben ergaben immer nahe übereinstimmende Trockensubstanzmengen. Um die Kohlensäure möglichst zu entfernen, wurde das Wasser, welches zur Herstellung der Nährlösungen diente, ausgekocht, rasch bei möglichst beschränktem Luftzutritt abgekühlt, zu je 250 ccm in offen bleibende Wasserkulturgläser eingefüllt und mit den vorher abgewogenen oder abgemessenen Nährsubstanzen versetzt. Da sich hierbei in allen Flaschen, welchen (wegen des formaldehydschwefligsauren Natrons) Dinatriumphosphat und außerdem Salze der alkalischen Erden (Calciumnitrat, Magnesiumsulfat etc.) zugesetzt wurden, ein weißer Niederschlag bildete, so wurden die Flaschen mit den Nährlösungen immer schon Tags zuvor angesetzt und über Kalilauge 12 Stunden lang stehen gelassen, bis der Niederschlag sich gesetzt hatte und die Lösung klar war. In diese Lösungen wurden dann die abgewogenen Spirogyrenmengen gebracht. Die Versuchsflaschen wurden in eine große Glasschale gebracht, deren Boden mit starker, frisch bereiteter Kalilauge einige Centimeter hoch bedeckt und in welche eine geräumige Glasglocke eingesetzt war; sämtliche (3—5) Flaschen befanden sich also in einem baldigst kohlensäurefrei werdenden geschlossenen Luftraum.

Mehrere solche quantitative Versuche, bei Luftzutritt und Kohlensäureausschluß angestellt, ergaben nun infolge des Zusatzes von formaldehydschwefligsaurem Natron erhebliche Vermehrung der Trockensubstanz unter Auftreten großer Stärkemengen im Chloro-

phyllband; freilich mußten hierzu die Kulturen mehrere Tage stehen und gesund bleiben; erkrankte Kulturen sind zu verwerfen, da sie sich nicht ausgiebig vermehren und weil durch das Absterben eines Teiles der Zellen Trockensubstanz in die Umgebung austritt und hiermit Trockensubstanzverlust eintritt; außerdem kommen durch den Austritt organischer Substanzen aus den Algenzellen Spaltpilze in die Lösung, welche Kohlensäure produzieren und damit Kohlensäureassimilation bei den grünen Pflanzen ermöglichen, also das Versuchsresultat fälschen können. Nach Beendigung des Versuches wurden die Flaschen herausgenommen, die Algen sofort mikroskopisch untersucht und dann nach dem Abtropfenlassen der Flüssigkeit und Waschen mit Wasser deren Trockensubstanz bestimmt.

So ergab ein Versuch mit formaldehydschwefligsaurem Natron + 0,05 Proz. Dikaliumphosphat, + 0,1 Proz. Calciumnitrat + 0,025 Proz. Bittersalz + 0,05 Proz. Calciumchlorid eine Vermehrung der Trockensubstanz von 0,21 g auf 0,26 g binnen 10 Tagen; viele Fäden (der Spirogyra nitida, die hier als Reinkultur angewandt wurde), waren abgestorben, so daß man also nicht bloß die hierbei ausgetretene Trockensubstanz noch zu den 0,26 g hinzuaddieren, sondern auch die wirklich erfolgte Trockensubstanzvermehrung auf Rechnung nur eines Teiles der angewandten Algenmenge setzen muß; die abgestorbenen Fäden konnten ja nicht assimilieren. Die lebenden Fäden waren nicht sehr reich an Stärke, es war also viele neugebildete Substanz zum Wachstum verwendet worden. Ein Kontrollversuch mit 0,1 Proz. Calciumnitrat + 0,025 Proz. Monokaliumphosphat + 0,05 Proz. Chlorkalium + Spur Eisenchlorid ergab nur 0,21 g Trockensubstanz, also ein Gleichbleiben der Trockensubstanzmenge während jener 10 Tage. Die Fäden boten hier Hungererscheinungen dar. Die Chlorophyllbänder waren ohne Stärke, ohne seitliche Ausbuchtungen, fast gerade, nicht mehr spiralig verlaufend, so kurz, daß sie kaum mehr die Hälfte der Zellenlänge einnahmen.

Die Versuche mit Formaldehyd sind von besonderem physiologischen Interesse, weil ein Körper von der Zusammensetzung CH_2O wahrscheinlich das erste Zwischenprodukt bei der Umwandlung von Kohlensäure in Stärke durch die Chlorophyllapparate ist (Baeyer).

Assimilation der Kohlensäure durch grüne Pflanzen. Bringt man entstärkte Algen in eine kohlensäurehaltige Atmosphäre bei guter Beleuchtung, so tritt die Stärkebildung binnen wenigen Minuten ein. Die grünen Pflanzen sind auf Kohlensäureassimilation vorzüglich eingerichtet, die Kohlensäureernährung gehört bei ihnen zu den normalen Funktionen; außerdem sind sie freilich auch sehr wohl imstande, organische Kohlenstoffquellen zu verarbeiten, ein Umstand, der früher nicht gewürdigt wurde.

Ueber die Quantität der Kohlensäureassimilation giebt in gewissem Grade die Land- und Forstwirtschaft Aufschluß. Nach angestellten Berechnungen kann man annehmen, daß der Wald pro Hektar jährlich ca. 3000 kg Kohlenstoff in Form von Holz und

Blättern ablagert. Boussingault hat gefunden, daß ein Hektar gut gedüngten Landes bei einer Fruchtfolge von Kartoffeln, Klee, Weizen und Stoppelrüben, Hafer, durchschnittlich im Jahre 2098 kg Kohlenstoff liefert. Der Wald produziert also fast um die Hälfte mehr Kohlenstoff als ein Ackerfeld; bei letzterem ist Kleebebauung am erfolgreichsten.

Nehmen wir an, daß diese Assimilation ausschließlich Kohlensäureassimilation (mit Zutritt von Stickstoff und Mineralstoffen) sei, was freilich nicht zutrifft, da auch organische Substanzen aus dem Ackerboden assimiliert werden, so fragt sich nun, wievieler Trockensubstanz dieser Kohlenstoff entspricht. Da der Kohlenstoff verschiedenartigen Substanzen entstammt (Eiweiß, Kohlehydraten, organischen Säuren etc.), so ist die Berechnung keine sichere. Immerhin dürften wir keinen zu großen Fehler machen, wenn wir die Trockensubstanz doppelt so hoch rechnen als den Kohlenstoffgehalt, also 6000 bezw. 4196 kg Trockensubstanz. Rechnen wir die Assimilationsdauer jährlich zu 100 Tagen, so ergiebt sich pro Tag eine Assimilationsgröße von 60 bezw. 41,96 kg pro Hektar eines Waldes bezw. eines Kleefeldes, Getreidefeldes etc.

Wieviel assimilierende Blattsubstanz auf einem Hektar Wald- oder Ackerfläche sich befinde, dürfte nicht gut zu bestimmen sein.

Sachs hat die Assimilationsgröße von 1 qm Blattfläche pro Stunde bei der Sonnenblume (Helianthus annuus) = 0,914 g Stärke gefunden, bei Cucurbita 0,68 g, gutes Tageslicht vorausgesetzt. — Rechnen wir die Arbeitszeit der assimilierenden Blattsubstanz zu 12 Stunden täglich, so ergiebt sich pro Tag bei Helianthus 10,968 g Stärke, bei Cucurbita 8,16 g. Da 1 qm Blatt von Helianthus und von Cucurbita etwa 200 g Trockensubstanz entspricht, so würde sich also die Trockensubstanz in einem Tage mindestens von 100 auf 105 bezw. 104 vermehren, bei geringerer Berechnung der Blatttrockensubstanz von 1 qm Blattfläche würde sich ein etwas höherer Prozentsatz des Trockensubstanzzuwachses herausrechnen.

Keinesfalls aber wird hier je die Höhe von Trockensubstanzvermehrung erreicht, die wir bei Pilzen beobachten; bei letzteren beträgt sie oft in 1 Tag soviel, daß die Trockensubstanz verdoppelt erscheint. (Autoreferat.)

Hoffmeister, Camill, Zum Nachweise des Zellkerns bei Saccharomyces. (Sitzungsber. d. deutsch. naturw.-med. Vereins f. Böhmen „Lotos". 1900. No. 5.)

Verf. giebt einen kritischen Beitrag zur Frage, inwieweit sich in der Hefezelle ein Zellkern findet und in diesem Falle, von welcher Beschaffenheit dieser Kern ist. Zur Fixierung der Zellen empfiehlt er 1) die vom Rath'sche Lösung, 2) Quecksilberchlorid, 3) Merkel's Lösung und 4) Jodjodkalium. In einer Tabelle teilt er mit, wie viel die Zellen von Saccharomyces ellipsoideus I durch die Behandlung mit verschiedenen Fixiermitteln einschrumpfen. Zur Färbung empfiehlt er das Verfahren von Heidenhain als das beste.

Verf. kam zu dem Resultate, daß ein Zellkern sich in den Hefezellen findet. Er sieht das von Wager in den Vakuolen beobachtete Fadengerüst für ein Kunstprodukt an, von der Fixierung mittels Sublimat herrührend. Er bekam es niemals, selbst wenn er die vom Rath'sche Lösung benutzte.

Während der Sprossung beobachtete er, daß der Zellkern sich gegen die Sprosse bewegt, und sich teilt, wenn die Tochterzelle eine gewisse Größe erreicht hat; der eine Teil des Kernes ging dann in die Tochterzelle über. Auch bei der Sporenbildung wurde eine Kernteilung beobachtet. „Diese Vorgänge erinnern außerordentlich an jene Prozesse, welche der Ascosporenbildung bei den echten Ascomyceten vorangehen.“ Verf. ist der Meinung, daß Schizosaccharomyces ein echter Ascomycet ist, der weit von den eigentlichen Saccharomyceten entfernt ist.

Die die Abhandlung begleitende Tafel stellt Zellkerne in Sacch. glutinis, Mycoderma vini, Sacch. apiculatus und echte Saccharomyceten dar. Klöcker (Kopenhagen).

v. Czadek, O. und **Kornauth, K.**, Ueber fadenziehendes Brot. (Zeitschr. f. d. landw. Versuchswesen in Oesterreich. Bd. V. 1902. Heft 7. p. 885.)

Die Versuche der Verff. bezweckten, die näheren Bedingungen für das Zustandekommen des fadenziehenden Brotes zu ermitteln.

Die Erscheinung des „Fadenziehens“ tritt seltener bei Sauerteigbroten, häufiger bei Hefenbroten ein, kann aber auch bei Mundgebäck auftreten. Zum Eintritt dieser Erscheinung ist ein gewisser Zeitraum, Wärme (über 15° C) und ein nicht zu geringer Feuchtigkeitsgrad notwendig. Der oder die Erreger des Fadenziehens gehören der Kartoffelpilzgruppe an, sind höchstwahrscheinlich in allen Mehlen enthalten und gelangen nur durch dieselben (nicht durch die Hefe etc.) in die Brote; in sämtlichen von den Verff. untersuchten Mehlen und Broten wurde nur eine, der von Vogel als Bacillus panis viscosi I bezeichnete, ähnliche Bakterie aufgefunden; dieser Bacillus unterscheidet sich von dem von Král-Prag bezogenen, als Bac. panis viscos. I Vogel bezeichneten nur wenig; während aber Vogel seinen Bacillus als unbeweglich beschreibt, ist der von den Verff. selbst isolierte, wie der von Král bezogene „Bacillus panis viscos. I Vogel“ beweglich und mit zahlreichen umstehenden Geißeln versehen.

Mit Sicherheit kann die Erscheinung des Fadenziehens hintangehalten werden: Durch Kaltstellen der dem Backofen entnommenen Brote, durch Zusatz von geringen Mengen Milchsäure zum Teige vor dem Gären und Backen und durch halben Ersatz des notwendigen Wassers durch saure Molken; mit der Abnahme der Feinheit des Mehles muß die Menge der anzuwendenden Milchsäure steigen, um ein Brot zu erzielen, welches sicher nicht fadenziehend werden kann. Die Säure des Brotes steigt durch den Zusatz von Milchsäure oder Molken vor dem Backen nur unbedeutend oder gar nicht an, wahrscheinlich weil sich bei dem Backprozeß der größte Teil derselben mit den Wasserdämpfen verflüchtigt.

Unreinlichkeit im Backbetriebe, die an sich natürlich verwerflich ist, hat bei den Versuchen der Verff. auf das Auftreten des Fadenziehens gar keinen Einfluß geäußert.

Wesenberg (Elberfeld).

Gruber, Th., Die Ursachen des Rübengeschmackes und Rübengeruches in der Milch und Butter. (Deutsche landw. Presse. 1902. No. 29. p. 446.)

In einer Butter, die zwecks Konservierung in einer schwachen Kochsalzlösung aufbewahrt wurde, beobachtete man das Auftreten des Rübengeruches; dies veranlaßte natürlich das bakteriologische Laboratorium der Kieler Versuchsstation, die Sache näher zu verfolgen, und es gelang denn auch, ein Bakterium rein zu züchten, das der Butter einen Rübengeruch verlieh. Obendrein stellte es sich bei den diesbezüglichen Untersuchungen heraus, daß die Intensität dieses Geruches und Geschmackes durch einen Zusatz von gewissen Erdbakterien ganz bedeutend erhöht werden konnte. Weiterhin konnte auch noch festgestellt werden, daß die Senföle und senfölartigen Körper der Rüben keineswegs in irgend welchem Zusammenhange mit dem Auftreten des Rübengeruches stehen. Diese Organismen — Pseudomonas Carotae —, welche den Rübengeruch erzeugen, gehören zu der Gruppe der sogenannten fluorescierenden Bakterien; sie stellen eine bewegliche Bacillenart dar und bilden keine Dauerformen, Sporen. Bei Anwendung von großer Hitze sind sie nicht lebensfähig; in der Milch bleiben sie jedoch erhalten und rufen alsdann durch ihre Keimung und weitere Vermehrung in derselben durchgreifende Zersetzungen hervor. Nach den Versuchen über ihre Widerstandsfähigkeit werden diese Organismenkeime bei 80° C während einer halben Stunde und bei 85° C sogar momentan samt und sonders abgetötet. Um diesen Milchfehler nicht auf die Butter zu übertragen, verbleibt uns als einziges Mittel, in der Praxis bei auftretendem Rübengeruche eine Pasteurisierung vorzunehmen. Auf die Pasteurisierung muß man eine möglichst niedere Abkühlung und letzterer eine kräftige Säuerung folgen lassen; diese kann man ja bequem durch Anwendung von guten Reinkulturen erzielen.

Heinze (Halle a. S.).

Abraham, Leuconostoc in Rübensäften. (Centralblatt für Zuckerindustrie. 1902. No. 10. p. 886.)

Der sogenannte Froschlaichpilz — Leuconostoc mesenteroides — findet sich bekanntlich zuweilen als eine außerordentliche Plage im Rübensaft, wie auch weiterhin in Zuckerraffinerien ein und es fällt alsdann oftmals durch denselben ein sehr beträchtlicher Teil des Zuckers einer noch wenig genauer untersuchten schleimigen Gärung anheim, wobei neben den Schleimmassen meist nur wenig Milchsäure und Kohlensäure auftreten; tiefere Spaltungen, zumal in größerem Umfange, dürfen indessen nur selten vorkommen.

Verf. hält jedoch das Vorkommen dieses Mikroorganismus für ein sehr allgemeines und will ihn mit Hilfe von Fabrikationsbedingungen bekämpft wissen, durch welche das Leben und die weitere Vermehrung desselben unmöglich gemacht wird. Man soll beispielsweise sämtliche Säfte immer oberhalb einer Temperatur von 43° C erhalten, eine Maßnahme, die allerdings gute Isolierungen, namentlich der Diffusion, erheischt. Weiterhin schlägt Verf. vor, die Wände der Diffuseure mit fein gepulvertem Flußspate zu bestreichen: nach dem Verf. soll sich der Flußspat im saueren Safte der Rüben allmählich auflösen und so die Mikroben abtöten (?) Eine derartige bakteriεide Wirkung dünkt dem Ref. sehr unwahrscheinlich, da das Fluorcalcium selbst so gut wie vollständig unlöslich in Wasser ist, und sogar in starken Säuren, wie die Mineralsäuren, sich nur schwer löst, während es in organischen Säuren, in Fruchtsäuren, wie Essigsäure, Milchsäure, Weinsäure etc. nur äußerst schwer in Lösung geht. Es müßte also dem Flußspat als solchem schon eine gewisse baktericide Wirkung zukommen oder aber man müßte an die event. Entstehung von sog. Doppelsalzen denken, denn eine — bei der Auslaugung von Rüben und der weiteren Verarbeitung der Säfte — eintretende Bildung von geringen Mengen bakterícid wirkender Flußsäure dürfte wohl mehr als fraglich sein. Heinze (Halle a. S.).

Neumann, P., Die Bakterien der Wurzelknöllchen der Leguminosen. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. 1901. p. 187.)

Durch genaue Untersuchungen, vornehmlich durch diejenigen von Prazmowski, wurde festgestellt, daß die Knöllchen bei allen Leguminosen durch die Bakterien hervorgerufen werden, welche man aus den Knöllchen auf künstlichem Nährboden, also außerhalb der Pflanze, durch Reinzucht erhält. Aus den Untersuchungen Prazmowski's geht weiter deutlich hervor, daß die Bakterien, die in die Pflanze eingedrungen sind, durch die Lebensthätigkeit der Pflanze in ihrer Lebenskraft geschwächt werden, so daß ihr Wachstum unterdrückt, ihre Vegetationskraft vernichtet wird und sie selbst in Formen übergeführt werden, die als sogenannte Bakteroidenform weiter nichts ist, als eine degenerierte Bakterienmasse, ein Eiweißklümpchen, das durch den Zellsaft allmählich in Lösung gebracht und von der Pflanze als Nahrung resorbiert wird. Es wären somit die Bakteroiden die Form, in welcher schließlich die Leguminosen ihren hohen Stickstoffgehalt decken und die die Bakteroiden bildenden Bakterien diejenigen, welche imstande sind, Stickstoff aus der Luft zu assimilieren, um stickstoffreiche Bakteroidenformen zu bilden. Der Nachweis, daß die die Knöllchen verursachenden Bakterien den Stickstoff der Luft zu assimilieren vermögen, ist bis jetzt auf künstlichen Nährböden noch nicht gelungen, so daß hier andere Ursachen eine noch unbekannte Rolle spielen. Beijerinck erwähnt, in älteren Kulturen von Bacterium radicicola zahlreicher Leguminosenpflanzen, insbesondere aus den Knöllchen der Erbse herangezüchtete Kulturen, öfters buckelige und gabelig verzweigte Formen

gefunden zu haben, wie solche in den Knöllchen als sogenannte Bakteroiden regelmäßig vorkommen. Prazmowski konnte diese Beobachtungen nicht bestätigen und führte diese auf einen Irrtum Beijerinck's zurück. Stutzer, der sich eingehender mit dem Wachstum der Bakteroiden beschäftigte, gelang es schließlich, nach mehrfach vergeblichen Versuchen mit verschiedenen Nährböden verzweigte Formen zu erhalten. Die Zusammensetzung der Nährböden war jedoch bei diesen Versuchen von großem Einfluß, nachdem auf verschiedenen Nährböden wenige oder gar keine verzweigten Formen gefunden wurden. Stutzer behauptete, daß man es hier nicht mit einem degenerierten Organismus zu thun hätte, sondern mit einem Lebewesen, welches auf einer höheren Stufe der Entwickelung stände, als jene längst bekannte Stäbchenform, die man bisher in künstlichen Nährböden züchtete.

Im Anschluß an die Stutzer'sche Arbeit hat Verf. in der Richtung hin Versuche angestellt, ob auch noch in Nährlösungen von anderer Zusammensetzung wie die Stutzer'schen Verzweigungen zu erzielen wären, und ob es möglich wäre, vielleicht diejenigen Formen konstant zu erhalten, wie sie gerade in den Knöllchen vorkommen. In beiden Versuchen wurden die sorgfältig vorbereiteten Knöllchen von Vicia Faba zerdrückt und in die verschiedensten flüssigen Nährmedien direkt übergeimpft. Die Resultate waren jedoch stets negativer Art, nachdem niemals Organismen mit Verzweigungen nachgewiesen werden konnten. Es waren stets nur kleinere bis größere Stäbchen der gewöhnlichen Form, bisweilen auch gekrümmte Organismen nachzuweisen. Auch auf Nährlösungen, die Smith angewendet hat, konnten keine positiven Resultate erhalten werden, ebensowenig aus Nährböden, welche unter anderen Legumin, Lupinin und Vicin enthielten. Hingegen gelang es aber in Nährlösungen, wie im Urin, Pflanzenextraktrest, Wurzelextraktrest, Erdenauszug, Saubohnensamen-Eiweißlösung, Eisbeerenabkochung, gut verzweigte Formen zu erhalten. Ein Zusatz von Salpeter zu den Nährlösungen, wie ihn Hiltner befürwortet, war wohl nicht von Bedeutung für die Bildung von verzweigten Formen, aber auch nicht schädlich. In allen Fällen — in Bezug auf die Zusammensetzung der Nährlösungen muß auf das Original verwiesen werden — konnte man jedoch beobachten, daß nach 3 bis 8 Tagen die verzweigten Formen sich in sehr kleine, fast wie Kokken aussehende Organismen teilten, die, in entsprechende Nährflüssigkeiten gebracht, immer wieder die verzweigte Form hervorbrachten. Hieraus geht hervor, daß die verzweigten Formen Uebergangsformen sind und erst durch ihren Zerfall Bakterien werden.

Versuche, die verzweigten Formen auch auf festen Nährböden zu kultivieren, führten zu keinem positiven Resultat. Bemerkenswert ist, daß nach Ueberimpfen in Saubohnen-Pflanzenextrakt mit Wasser und Zuschmelzen des Röhrchens nach 10 Tagen eine üppige Entwicklung sich zeigte, und die Organismen kurz und gedrungen und einfach verzweigt waren und ganz das Aussehen der echten Bakteroiden besaßen, wie sie in den Knöllchen vorkommen.

Stift (Wien).

Neumann, P., Untersuchungen über das Vorkommen von Stickstoff-assimilierenden Bakterien im Ackerboden. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. 1901. p. 203.)

Da die bisherigen Versuche, welche bezweckten, die in den Knöllchen der Leguminosen enthaltenen Bakterien auf künstlichen Nährböden zu einer Assimilation des freien Stickstoffes zu veranlassen, kein zufriedenstellendes Ergebnis geliefert haben, so sollte durch Versuche festgestellt werden, ob vielleicht die in unmittelbarer Nähe der Knöllchen im Erdboden vorhandenen Bakterien oder die auf dem oberirdischen Kraut sich vorfindenden Mikroorganismen hierzu in besonderem Grade befähigt sind. Während andere Forscher große Mengen leicht löslicher Kohlehydrate zur Ernährung der Mikroorganismen verwendeten, hat Verf. organische Stoffe nur in sehr geringer Menge dargereicht. Durch Auskochung grüner Pflanzenteile wurden die leichtlöslichen Kohlehydrate, welche auch im Boden der Zersetzung schnell anheimfallen, entfernt und dürften unter den Verhältnissen in der Natur wesentlich die allmählich zur Lösung gelangenden Pentosen den betreffenden Mikroorganismen die Nahrung bei der Assimilation des Stickstoffes liefern. Zur Herstellung der Nährböden wurde das grüne Kraut der Vicia Faba, ferner der Extrakt aus den Knöllchen der Vicia Faba mit daran hängender Erde und endlich Torfnährboden — aus Torfmull hergestellt — verwendet. Die Nährlösungen wurden noch mit Mineralsubstanzen versetzt, sterilisiert und hierauf mit bakterienhaltigen Flüssigkeiten geimpft. Dieselben wurden in der Weise hergestellt, daß von den im vollen Wachstum befindlichen Pflanzen der Vicia Faba die oberirdischen Teile und die Wurzeln voneinander getrennt, die den Wurzeln und den Knöllchen anhaftende Erde mit Wasser verteilt wurde und solche als erste Impfflüssigkeit diente. Die zerkleinerten und zerdrückten Wurzeln und Knöllchen dienten, wenn auch nicht völlig von Erde befreit, als zweite bakterienhaltige Flüssigkeit; die zerkleinerten oberirdischen Pflanzenteile, in Wasser verteilt, als dritte Impfflüssigkeit. Die Nährböden wurden in Kolben gebracht und diese standen mit einer Saugpumpe in Verbindung, nachdem noch ein Gefäß mit titrierter Schwefelsäure eingeschaltet war, um festzustellen, ob vielleicht eine Entwickelung von Ammoniak stattfand. Die durch die Kolben geleitete Luft wurde durch vorgelegte Absorptionsgefäße vom Stickstoff befreit. Nach 14-tägigem Durchleiten von Luft bei Zimmertemperatur wurden die Versuche unterbrochen und die Nährböden auf Stickstoff untersucht. Es hat sich nun gezeigt, daß eine Assimilation des Stickstoffes stattgefunden hat, wobei dieselbe jedoch wesentlich von der den Bakterien zur Verfügung stehenden organischen Nahrung abhängig ist. Der Torf war nicht imstande, die Organismen mit Nahrung zu versorgen, auch die auf den Wurzeln bereitete Nährflüssigkeit wirkte nur mangehaft. Dagegen hat ganz gut die aus dem grünen Kraut der Vicia Faba hergestellte Nährflüssigkeit gewirkt und kann dieselbe an organischen Stoffen nur schwer lösliche Pentosen enthalten haben. Stift (Wien).

Czapek, Untersuchungen über die Stickstoffgewinnung und Eiweißbildung der Schimmelpilze. 2. Teil: Ueber die Verwendbarkeit von Aminen, Amiden und Ammoniaksalzen zum Eiweißaufbau bei Aspergillus niger van Tiegh. (Hofmeister's Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. II. 1902. Heft 10—12. p. 557—590.)

In einer früher referierten Arbeit des Verf.'s hatte sich ergeben, daß die Aminosäuren hervorragend zur Eiweißsynthese im Organismus des Schimmelpilzes geeignet sind. Es ergab sich daraus mit großer Wahrscheinlichkeit, daß die vitale Synthese des Eiweißes seinen Weg über die Aminosäuren nimmt. In Fortsetzung seiner wichtigen Studien untersuchte nun Verf. eine große Zahl stickstoffhaltiger organischer Substanzen auf ihre Fähigkeit, dem Eiweißaufbau bei Aspergillus niger dienen zu können. Dabei beschränkte er sich nicht auf diejenigen Substanzen, welche auf Grund bekannter chemischer Beziehungen mehr oder weniger einfach Aminosäuren liefern können. Als Nebenresultat stellte sich durch Prüfung der Stickstoffbilanz heraus, daß die Pilze während ihrer Wachstums auf den Nährböden weder Stickstoff abgeben noch Luftstickstoff zu assimilieren vermögen.

Von den bemerkenswerten Befunden kann nur einiges hervorgehoben werden. Für den Nährwert von Alkylaminen, die stets als Salze verwendet wurden, erwies sich von großer Bedeutung, ob die Säure des Aminsalzes stark oder schwach dissociiert ist; augenscheinlich kommt es auf die Zahl der freien Kationen des Aminsalzes an. Als gute Stickstoffquellen können sowohl primäre als sekundäre und tertiäre Amine dienen, nur die quaternären Ammoniumbasen erwiesen sich als unbrauchbar. Für die quantitative Ausbeute an gebildetem Eiweiß kommt es auch hier wie bei den Amidosäuren darauf an, in welcher Form der Kohlenstoff dem Pilz zugeführt wird. Gegenwart von Hydroxylgruppen wirkt sehr günstig auf den Nährwert der Amine.

Von den Diaminen eigneten sich im allgemeinen die cyklischen weniger zur Pilzernährung, bei den Amiden waren besonders die Amide der zweibasischen Säuren geeignet, die Nitrile sind mit der einzigen Ausnahme des Amygdalins durchweg schlechte Stickstoffquellen, die Amidine durchaus gute.

Harnstoff ist unbrauchbar, wohl aber eignet sich Harnsäure, Hydantoin und Allantoin. Methylierung im Harnsäurekomplex hemmt die Tauglichkeit zur Stickstoffnahrung, wie am Theobromin und Koffein gezeigt wird.

Für viele hier nicht erwähnte Thatsachen, insbesondere für das Verhalten der Ammoniaksalze und für die Kohlenstoffquellen des Eiweißaufbaues der Pilze sei auf das Original verwiesen. Daselbst finden sich auch in Fülle geistvolle theoretische Betrachtungen.

Martin Jacoby (Heidelberg).

Jacky, E., I. Beitrag zur Pilzflora Proskaus. (Schles. Ges. für vaterländische Kultur. 1901.)

Veranlaßt durch zahlreiche Pilzbefunde, sowie durch Neuordnung der Pilzsammlungen des pomologischen Instituts giebt

Verf. eine 29 Seiten umfassende Liste der bisher in der Umgegend von Proskau aufgefundenen Pilze. Außer Jacky selbst sind als Finder Aderhold, Kirchner, Schröter und Sorauer genannt.

Durch die Thätigkeit der meisten derselben ist es erklärlich, daß in erster Linie die parasitären Pilze durch ihre Anzahl hervortreten; es entfallen von den 431 aufgeführten Arten 80 allein auf die Rostpilze. Dagegen sind von den Bakteriaceen vorwiegend die technisch wichtigen und nur einzelne der allgemein verbreiteten Arten berücksichtigt.

Hoffentlich wird dieser erste Beitrag zur Pilzflora Proskaus nicht der letzte sein, was um so mehr zu wünschen ist, als dieser schon zeigt, ein wie reiches Gebiet dieser Teil Oberschlesiens ist.

Appel (Charlottenburg).

Fischer, Ed. Fortsetzung der entwickelungsgeschichtlichen Untersuchungen über Rostpilze. (Ber. der schweiz. botan. Ges. 1902. Heft 12. p. 1—9.)

7) Puccinia Cari-Bistortae Kleb. Versuche mit überwinterten Teleutosporen von Puccinia Bistortae, welche spontan im botanischen Garten in Bern aufgetreten war, hatten einen Erfolg auf Carum Carvi, nicht aber auf Astrantia major und minor, die ihres Standortes wegen als Wechselwirte in Betracht zu kommen schienen. Ebenfalls von Erfolg war ein analoger Versuch mit Teleutosporen aus dem Berner Oberland; auch hier wurde Carum Carvi infiziert, nicht aber Astrantia und Meum Mutellina. Die auf Polygonum viviparum häufige Puccinia unterscheidet sich durch die viel kleineren Teleutosporen von Puccinia Cari-Bistortae, doch scheint es Fischer noch fraglich, ob die Schweizer Art mit der Juel'schen P. Polygoni-vivipari identisch ist, da in der Schweiz der Pilz auch an Oertlichkeiten vorkommt, an denen die von Juel als zugehöriger Zwischenwirt erkannte Angelica silvestris nicht vorkommt.

8) Cronartium asclepiadeum (Willd.). Infektionen mit Uredosporen von Vincetoxicum auf Gentiana asclepiadea gelangen, wie schon im Vorjahre, nicht, wohl aber wieder auf Vincetoxicum officinale und Paeonia tenuifolia. Auch der umgekehrte Versuch, Infektion von Vincetoxicum durch Uredosporen von Paeonia tenuifolia, gelang. Bemerkenswert ist, daß auf Paeonia die Uredo-Lager weniger lange und weniger reichlich gebildet werden, als auf Vincetoxicum.

9) Die Uredo- und Teleutosporenform von Aecidium elatinum Alb. et Schw. Diese Mitteilung enthält eine kurze Wiedergabe der in der Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten publizierten Arbeit über das gleiche Thema.

10) Aecidium strobilinum (Alb. et Schw.). Fischer erhielt durch Infektion mit Aecidium strobilinum die Thecopsora Padi auf Prunus virginiana in derselben Weise, wie sie Tubeuf auf Prunus Padus erhalten hatte. Das Infektionsmaterial, das hängen geblieben war, gab auch im nächsten

Jahre noch eine Infektion, so daß die Keimdauer der Sporen als mindestens 2-jährig angenommen werden muß.

Appel (Charlottenburg).

Klebahn, H., Neue heteröcische Rostpilze. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XI. Heft 4/5. p. 193.)

In einer vorläufigen Mitteilung bringt Verf. die Thatsache zur Kenntnis, daß er den Zusammenhang folgender Pilze nachgewiesen hat:

1) Coleosporium Pulsatillae, Aecidium: Peridermium Jaapii auf Kiefernnadeln.

2) Melampsora Allii-Salicis albae: Caeoma auf Allium-Arten, Uredo- und Teleutosporen auf Salix alba.

3) Melampsora Allii-populina: Caeoma auf Allium, Uredo- und Teleutosporen auf Populus nigra.

4) Melampsora Galanthi-Fragilis: Caeoma auf Galanthus nivalis, Uredo- und Teleutosporen auf Salix fragilis und pentandra.

5) Bei Aecidium elatinum wurde der Zusammenhang mit Melampsorella Cerastii, den Fischer und v. Tubeuf gefunden haben, bestätigt.

6) Puccinia Cari-Bistortae ist mit Puccinia Angelicae-Bistortae identisch und daher zu streichen.

7) Aecidium Pastinacae lebt in seiner Teleutosporenform, wie Rostrup schon annimmt, auf Scirpus maritimus.

Appel (Charlottenburg).

Scalia, G., Intorno ad una nuova forma del Fusicladium dendriticum (Wallr.) Tuck. (Bollettino delle sedute della Accademia Gioenia di Science Naturali in Catania. Luglio 1901. Fasc. 70. p. 15.)

Verf. berichtet über eine bei Trecastagne (Catania) sehr verbreitete Krankheit der japanischen Mispel. Auf den Blättern beobachtet man kreisrunde, zuerst zerstreute, später zusammenhängende, mit einem olivenfarbigen, sammetartigen Flaume bedeckte Flecke, die peripherisch allmählich zunehmen, während sie im Centrum schrumpfen und zerreißen, so daß endlich breite Dürrflecke entstehen, welche das Blatt ganz oder teilweise beeinträchtigen.

Die jungen Sprosse, die Blütenstandachse und später die jungen Früchte erscheinen ganz oder teilweise durch den dichten olivenfarbigen Ueberzug verschleiert. Die erkrankten Teile, besonders an den Sprossen lösen sich sehr früh los, so daß an den älteren Zweigen die Spuren der Krankheit zu verschwinden pflegen und die geheilten Teile mit einer Korkschicht bedeckt bleiben, deren Phellogen in den tieferen Lagen des Rindenparenchyms entsteht.

Die unreifen Früchte werden sehr früh mit dem dunklen Ueberzuge bedeckt, und dies entweder teilweise, und dann werden die infizierten Organe durch Korkbildung abgestoßen, oder ganz, und in diesem Falle geht die Frucht zu Grunde.

Diese Krankheit wird von einem Fusicladium bewirkt, das nach Verf. eine von den anderen die japanische Mispel bewohnenden, durch Cavara und Peglion bekannten Fusicladien abweichende Form darstellt, die er als F. dendriticum f. Eryobotryae japonicae bezeichnet und näher beschreibt. Am Schlusse sind die Diagnosen der drei Formen hinzugefügt, aus welchen wir die der neuen Varietät entnehmen.

Fusicladium dendriticum f. Eryobotryae japonicae Scalia maculis olivaceis, velutinis, in foliis rotundatis, in ramulis fructibusque effusis; hyphis erectis, non rare subundulatis, fasciculatis, μ 34—50 » 6—7; conidiis fusoideo-oblongis, basi rotundatis, saepeque truncatis, diu hyalinis et continuis, dein olivaceis, 1-septatis, non vel parum constrictis, μ 17—24 » 8,5—10. — In foliis, ramulis fructibusque. Sicilia (Trecastagne e Viagrande).

Pantanelli (Modena).

Renaudet, G., De la fasciation herbacée et ligneuse. 50 pp. und 4 Tafeln. Poitiers 1901.

In einer kurzen Einleitung wird ganz richtig hervorgehoben, daß schon in der Vor-Linné'schen Zeit die Verbänderungserscheinungen bekannt waren, daß man aber noch jetzt über die Eigenheit jener Erscheinungen nicht ganz im klaren ist. Einer näheren Deutung dieser Erscheinungen ist vorliegende Dissertation gewidmet; doch bleibt der eingeschlagene Weg etwas zu einseitig.

Zunächst wird die äußere Morphologie der Erscheinung behandelt. Hier befremdet etwas die Behauptung, daß bei Holzpflanzen die Fasciation von Stammteilungen begleitet ist (was wohl nicht immer eintritt! Ref.). Es folgt die Beschreibung eines gebänderten Stengels von Anthriscus silvestris mit konkav ausgebildeter Oberfläche. Die schneckenförmige Fasciation an der Spitze der Stengel ist ein nicht seltener Fall (entsprechend der „bandartigen Fasciation der Stämme" der italienischen Litteratur). — Die Fasciation des Stengels erstreckt sich bisweilen auch auf die Blattstiele und ist von Blattteilungen gefolgt oder auch nicht. Die Blattstellung erfährt jedenfalls dabei eine Abweichung. Als nächste Folgen werden auch die bekannten massenhaften Ausbildungen von Trieben, beziehungsweise das Abortieren von Knospen genannt.

Die verschiedenen Formen der Fasciation gliedert Verf. wie folgt: 1) einfache Fasciation, die bei weitem häufigste und an jeglichem Pflanzenorgane mögliche Erscheinung; 2) die spiralige, wie Gillot sie für Valeriana dioica angiebt und überhaupt bei den Baldriangewächsen zum Ausdrucke gelangt; 3) die schneckenförmige, auf ungleichem Seitenwachstum beruhende Drehung der Stammteile, die sich nicht selten zeigt; 4) die hirtenstabförmige. Für diese führt Verf. ein Beispiel einer Robinienpflanzung an der Bahnstrecke zwischen Parthenay und Niort an, wo zahlreiche Zweige dieselbe aufweisen. 5) Die fächerförmige, wie bei Evonymus japonica, Sambucus nigra u. s. w.; 6) wird eine unbestimmte Fasciation für alle jene Fälle aufgestellt, die sich in eine der früheren Kategorien nicht unterbringen lassen. Hierher

die Bänderungen von Helianthus annuus, Nicotiana affinis, Zea mais, Aconitum Napellus, Agrimonia Eupatoria, Abies excelsa etc.

Im Anschlusse daran glaubt Verf. bestimmt aussagen zu können, daß die Phyllocladien von Ruscus gleichfalls von einer einfachen Fasciation der Zweige abzuleiten sind; desgleichen sind als Fasciationen die zu Phyllodien entwickelten Blattstiele von Acacia longifolia und A. heterophylla zu betrachten.

In dem physiologischen Teile der Frage sucht Verf., von den Turgorverhältnissen des Markgewebes ausgehend, nachzuweisen, daß Druck- und Spannungsverhältnisse eigener Art auf das Wachstum der Organe einwirken und deren Abflachung verursachen. Hiernach ließe sich folgende Definition der Fasciation aufstellen: „Sie ist die Resultierende der Druckkräfte beziehentlich in der Rinde und im Centralcylinder während ihrer Wachstumsthätigkeit. Die Gesamtheit der Druckkräfte im Centralcylinder ist größer als in dem Rindengewebe und in der Oberhaut; die letzteren müssen daher jenen nachgeben, während man, im natürlichen Zustande, einen Ausgleich zwischen den Druckkräften in den verschiedenen Geweben beobachtet.“

Die Abplattung dieser Organe zeigt, daß das Phänomen des Längenwachstums keineswegs ein konstantes ist. Wie aber die Fälle von Anthriscus und Robinia zeigen, vermag ein ungleichseitiges Wachstum auch Nutationserscheinungen hervorzurufen, welche schließlich zu der spiraligen Fasciation führen. — Einige an Marchantia beobachtete, aber unerklärlich gebliebene Fasciationen schienen der Ausdruck eines übertriebenen Druckes zu sein; gerade so, wie man künstlich durch Anwendung sehr starken Druckes an Matthiola und Valeriana Fasciationen hervorzurufen vermochte.

Bei Pflanzen mit rissiger Rinde (Oleaceen, Caprifoliaceen) stellen sich Verbänderungserscheinungen ein. Für diese Fälle läßt sich beobachten, daß der Centralstrang von dem peripheren Gewebe stets durch ein dünnes schleimiges Gewebe getrennt ist, welches das Aufreißen der Rinde in eigentümlicher Weise erleichtert. Der Unterschied in der Wachstumsgeschwindigkeit der Primordialzellreihen bedingt bei diesen Pflanzen sehr häufig die Fasciation.

In der Folge analysiert Verf. die Ansichten, welche in der Litteratur vorkommen über eine Deutung des in Rede stehenden Phänomens. Er geht von A. P. de Candolle's Ansicht einer Verwachsung aus, welcher Moquin Tandon und Masters beitraten, gegen welche aber Clos seine Ansichten von Teilungen und Spaltungen (dédoublements), beispielshalber an Prunus-Arten, an Ribes nigrum aufstellte. Aber keine der beiden Theorien befriedigt. Ebensowenig läßt sich die Ansicht Léveillé's (betreffs der Oenotheraceen), noch jene Le Gendre's (an Taraxacum officinale, Bellis perennis), auch nicht jene von A. Daguillon (an Epheu) u. s. w. aufrecht erhalten.

Wurzeln zeigen gleichfalls, wenn auch selten, Fälle von Verbänderungen; bekannt sind jene von tropischen Orchideen, von

Epheu u. s. w. Auch bei Hutpilzen kommen Fälle vor, welche ihrer etymologischen Bedeutung nach der Definition einer Fasciation entsprechen, wenn sich auch die Abplattung der Strünke nicht mit der Verbänderung der phanerogamen Stämme vergleichen läßt. Zu den bekannten Beispielen (bei De Seynes) fügt Verf. noch einige hinzu bei Hypholoma fasciculare Hds., Boletus subtomentosus L. — welche auch abgebildet werden — und bei Penicillium glaucum.

Was die Ursachen einer Fasciation betrifft, so werden die Ansichten von Knight (Ueberschuß von Ernährung), von Linné (Druckwirkungen), von Plos (Ueberschuß von Säften in der Pflanze) u. s. w. kritisiert, dazu noch der Einfluß des Lichtes genannt, wie Verf. denselben in einem Eschenwalde wahrgenommen.

Ob Fasciationen erblich sind oder nicht, läßt sich derzeit an der Hand der wenigen Beispiele, welche beiden Seiten der Frage gerecht werden, noch nicht feststellen.

Hierauf folgen zwei lange Verzeichnisse von Verbänderungen bei krautigen und bei holzigen Gewächsen. Daran anschließend einige allgemeine Schlußbemerkungen. Solla (Triest).

Reuter, Enzio, Ueber die Weißährigkeit der Wiesengräser in Finland. (Acta Soc. pro fauna et flora fennica. T. XIX. 1900. No. 1.)

Die Taub- oder Weißährigkeit vieler Gramineen wird dadurch charakterisiert, daß die Aehren bezw. Rispen total vergilben und absterben oder nur partial weiß und taub werden. Verf. beschäftigt sich nur mit denjenigen Fällen der Weißährigkeit, in welchen von tierischen Angreifern die Ursache der Krankheit ausgeht.

Bei „totaler“ Erkrankung bleiben die tauben Aehren und Rispen in der obersten Blattscheide stecken, die Blütenstände sind gelb, im Gegensatz zu den frischgrünen unteren Teilen der Pflanze. Bei „partialer“ Erkrankung bleiben Aehren und Rispen meist nicht in der Blattscheide stecken, wachsen vielmehr aus ihr hervor und erreichen oft ihre normale Höhe. Die tauben Stellen sind weiß.

Die Angriffe der Parasiten können zweierlei Art sein und entweder den Grashalm betreffen (kulmale Angriffe) oder die Aehre (spikale Angriffe). Bei den kulmalen wird der Halm entweder von außen angegriffen (extrakulmal) oder von innen her, so daß das Verwelken erst durch die Verletzungen des schon innerhalb, im Lumen des Halmes lebenden Tieres bewirkt wird (intrakulmal). Bei den extrakulmalen Angriffen unterscheidet Verf. zwischen mordiven, rodiven, sugiven und pungiven, je nachdem das Tier den Halm abbeißt, bezw. ein Loch in ihn hineinfrißt, oder die weichen Teile benagt, oder ohne deutliche Verletzungen hervorzurufen, nur ansaugt und aussaugt, oder, schließlich den Halm durch seinen Stachel verletzt. Je nach der Lage der Angriffsstelle unterscheidet Verf. zwischen basalen, infranodalen, nodalen, supranodalen, infraspikalen und interstitialen Angriffen. — Aehnliche Unterschiede

lassen sich bei den Fällen der Weißährigkeit feststellen, in welchen das Tier im Innern des Halmes lebt.

Bei spikalen Angriffen kann entweder die Aehrenspindel bezw. ihre Hauptzweige (rhachidale) oder die Blütchen selbst (florale Angriffe) als Ziel dienen, die letzteren werden entweder von außen oder von innen angegriffen (intrafloral und extrafloral).

Weiterhin unterscheidet Verf. zwischen longitudinalen und transversalen Angriffen, je nachdem die Verletzung parallel zur Längsachse des Halmes fortschreitet oder nicht.

Die Zahl der Arthropoden, welche Weißährigkeit hervorrufen, ist außerordentlich groß. Von den Insekten kommen in Finland nach Verf. folgende in Frage:

Thysanoptera: Aptinothrips rufa, Limothrips denticornis, Chirothrips hamata, Anthothrips aculeata.

Lepidoptera: Hadena secalis, H. strigilis, Ochsenheimeria taurella, Tortrix paleana, Anerastia lotella.

Diptera: Cleigastra armillata, Cl. flavipes, Osciniden-arten, Oligotrophus alopecuri, Stenodiplosis geniculati u. a.

Hymenoptera: Cephus?

Hemiptera: Siphonophora cerealis.

Von den Acarinen nennt Verf. Pediculoides graminum n. sp., Tarsonemus culmicolus n. sp., Eriophyes cornutus n. sp., E. tenuis.

Für jeden der Schädlinge giebt Verf. die verschiedenen Wirtspflanzen an und schildert die Art seiner Angriffe.

Die Beteiligung der meisten angeführten Tiere am Zustandekommen der Weißährigkeit ist übrigens eine geringe; praktische Bedeutung kommt nur zwei von ihnen zu: Pediculoides graminum und Aptinothrips rufa. Pediculoides graminum, dessen Lebensweise vom Verf. eingehend geschildert wird, verursacht typisch totale Weißährigkeit durch transversal-, supranodal-, extraculmalrodive Angriffe. Pediculoides graminum lebt den ganzen Sommer hindurch bis zum Spätherbst an den im Frühling angegriffenen, Weißährigkeit aufweisenden Graspflanzen und zwar innerhalb der Scheide oberhalb des obersten oder zweitobersten Knotens. Die von Aptinothrips rufa erzeugte Weißährigkeit ist meist total, die Art ihrer Angriffe gleicht vorwiegend der von Pediculoides; bei der mehr accidentellen partialen Weißährigkeit handelt es sich um transversal-, rhachidal-rodive bezw. extrafloralrodive Angriffe. Im Gegensatz zu Pediculoides kann Aptinothrips nicht als obligatorischer Erreger der Weißährigkeit bezeichnet werden. Küster (Halle a. S.).

Rübsaamen, Ew. H. Ein neuer Feind der deutschen Rebe. (Zur guten Stunde. Jahrg. XV. 1902. Heft 12.)

An ungewohntem Orte bringt Rübsaamen eine Mitteilung, welche unzweifelhaft Interesse beansprucht. Zwar handelt es sich nicht im strengen Sinne um einen neuen Feind der Rebe, sondern vielmehr um ein bisher nicht beobachtetes schwere Schädigungen hervorrufendes Auftreten eines seit langem bekannten Reben-

schädlings — des Otiorrhynchus sulcatus. Während man bisher im wesentlichen nur die Beschädigung der Blätter durch den Dickmaulrüßler beobachtet hatte und dieser Beschädigung keine allzugroße Bedeutung beilegte, hat R. in einigen Strichen, an der unteren Saar und bei Ockenfels am Rhein, nachgewiesen, daß die Larve im stande ist, Rebpflanzungen morgenweise zu verheeren. Die Larven fressen meist ringförmige oder spiralige Gänge in die Wurzelrinde und bringen dadurch den unterhalb dieses Angriffes liegenden Teil der Wurzel zum Absterben. Wenn der Käfer so häufig ist, wie in dem verseuchten Gebiete — es wurden an einzelnen Tagen bis zu 1200 Käfer gesammelt — so ist es verständlich, daß selbst junge kräftige Weinberge eingehen.

Versuche über Bekämpfungsmittel haben ergeben, daß ein Absuchen der Rebstöcke nur dann einen Zweck hat, wenn es häufiger geschieht; Moosfallen und Schutzgräben haben sich gar nicht bewährt, dagegen tritt R. für Versuche mit kleinen Gaben Schwefelkohlenstoff ein. Dabei muß allerdings genau die Zeit beachtet werden, in welcher die meisten Larven im Boden sind — also der Herbst. Appel (Charlottenburg).

Noel, P. Insecte briseur de pommier, Gorimus nobilis. (Le naturaliste. Année XXIV. 1902. p. 141—142.)

N. macht den unserem Rosenkäfer verwandten Lamellicornier Gorimus nobilis für Schädigungen verantwortlich, die man von diesem verhältnismäßig seltenen Insekt bisher nicht vermutet hatte. In der Normandie fielen nämlich in jüngster Zeit bei einer sehr guten Apfelernte besonders viele Astbrüche vor, deren mittelbare Ursache der Larvenfraß jenes Käfers sein soll. Nachdem nämlich die Eier an angefaulte Aststellen abgelegt worden sind, frißt sich die Larve immer tiefer in das weiche Innere hinein, es in ein schnupftabakähnliches Fraßmehl verwandelnd. Indem Feuchtigkeit und Pilze nachfolgen, wird des Holz allmählich gänzlich ausgehöhlt und faul, bis endlich ein Windstoß den nur von der Rinde zusammengehaltenen Ast abbricht. Kirschen und Pflaumen sollen in ähnlichem Grade unter dem Larvenfraß leiden. Ob Gorimus nobilis auch in anderen Gegenden den ihm von N. beigelegten Namen „Apfelbaumbrecher" verdient, müßte doch erst festgestellt werden. Jacobi (Berlin).

Cecconi, G., Intorno ad alcune galle raccolte all'isola di Cipro. (Malpighia. Vol. XV. 1901. p. 38.)

Aufzählung und Beschreibung einiger auf der Insel Cypern im Januar 1899 gesammelter Gallen: Eriophyidarum sp. auf Acer obtusifolium und Obione portulacoides, Eriophyes Oleae n. sp. auf Olea europea, Aploneura Lentisci Pass., Eriophyes Stefanii Not, Pemphigus cornicularius Pass. auf Pistacia Lentiscus, Eriophyes (Cecidophyes) syriacus Foken auf Salicornia fruticosa, Eriophyes Salviae Nal. auf Salvia clandestina.

Pantanelli (Modena).

Cecconi, G., Contribuzioni alla cecidiologia italiana, (Le Stazioni sperimentali agrarie italiane. Vol. XXXIV. 1901. p. 729—744.)

Es werden 110 Gallen mit ihren Wirtspflanzen aufgezählt, und zwar einige auf neuen Substraten. Neu für Italien sind Dryocosmus Cerriphilus Gir. auf Quercus Cerris, Andricus Seckendorffii Wachtl. auf Quercus sessiliflora, Cynips mediterranea Trotter ebenda. Pantanelli (Modena).

Cecconi G., Quarta contribuzione alla conoscenza delle galle della foresta di Vallombrosa. (Malpighia. Vol. XV. 1901. p. 49—71.)

Aufzählung und genaue Beschreibung von 52 Gallen, unter welchen fünf als neu angegeben werden, ohne indes das Cecidozoon beobachtet zu haben. Diese Arbeit hat somit nur geographisches Interesse. Pantanelli (Modena).

Rübsaamen, Ew. H., Bericht über meine Reisen durch die Tucheler Heide in den Jahren 1896 und 1897. Nebst Beiträgen von Fr. Dahl, Th. Kuhlgatz und Fr. Thurau. 70 p. Mit 14 Textfiguren. (Schriften der Naturforschenden Gesellschaft in Danzig. N. F. Bd. X. 1901. Heft 2/3.)

Im Auftrage des Westpreußischen Botanisch-Zoologischen Vereins bereiste der Verf. in den Jahren 1896 und 1897 die Tucheler Heide behufs Untersuchung derselben auf Arthropoden. Der jetzt erschienene ausführliche Bericht über die dabei gemachten Funde enthält neben der Aufzählung zahlreicher Coleopteren (bearbeitet von Kolbe), Spinnen (bearbeitet von Dahl), Orthopteren, Hemipteren und Neuropteren (bearbeitet von Kuhlgatz), Lepidopteren (bearbeitet von Thurau), Dipteren (die Gattungen Tachina und Anthomyia hat Girschner bearbeitet), Aphiden und Cocciden (bearbeitet von Rübsaamen) eine große Menge Angaben über Gallen, unter denen viele neu für Westpreußen, eine Reihe überhaupt neu sind.

Als neu sind beschrieben: Phytoptocecidium (Blattrollungen) an Astragalus arenarius, Dipterocecidium an Evonymus verrucosa (schwache Ausstülpung der Blattspreite nach oben), Dipterocecidium an Galium boreale (Schopfgalle), Thrips-Galle an Galium verum (Blätter der Triebspitzen gerollt und gekrümmt), Silpha maidis an Holcus lanatus (Blätter der Halmspitze büschelig), Phytoptocecidium an Lysimachia thyrsiflora (Blattrollung nach unten), Phytoptocecidium an Populus alba (Erineum), Poecilia nivea an Quercus sessiliflora (Anschwellung der Zweigspitzen), Cecidomyide an Silene nutans (Verkürzung der Internodien an der Triebspitze), Cecidomyide an Stellaria Holostea (Triebspitze knopfförmig), Thrips sp. an Stellaria media (Blätter gedreht und gerollt) und Thrips sp. (?) an Veronica Chamaedrys (rotbeulig aufgetriebene Blätter).

Bemerkenswert ist außer einer Reihe von Gallen, die vorher erst an einer einzigen Oertlichkeit gefunden waren, auch der Nachweis der bisher nur aus England und den Alpen bekannten durch Oligotrophus taxi erzeugten Taxusgalle. Anhangsweise wird noch eine Reihe von Gallen aus der Brischke'schen Sammlung des westpreußischen Provinzialmuseums, sowie von Treichel gesammelter Cecidien aus dem Herbarium Magnus aufgeführt.

Ob die an Carex stricta (?) aufgeführten Gallen (Dichrona gallarum, Pseudohormomyia granifex und Thurania aquatica) wirklich an dieser Art gefunden wurden, erscheint fraglich, da die Abbildung die für Carex stricta so charakteristischen Netzfasern der Blattscheiden nicht aufweist.

Die beigegebenen Abbildungen sind, wie dies ja stets bei dem Verf. der Fall, ganz besonders schön. Appel (Charlottenburg).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Galeotti, G., Ueber die Wirkung kolloidaler und elektrolytisch dissociierter Metalllösungen auf die Zellen. (Biolog. Centralbl. Bd. XXI. p. 321.)

Nägeli hat bei seinen Untersuchungen über die sogenannten oligodynamischen Erscheinungen in lebenden Zellen beobachtet, daß gewisse für die Algen giftige Lösungen in außerordentlicher Verdünnung in den Algen gewisse Schädigungen hervorriefen, welche vorzüglich darin bestanden, daß die Chlorophyllbänder von dem Plasmaschlauche, der vorerst noch genau in seiner ursprünglichen wandständigen Lage bleibt, sich ablösen, verkürzen und zusammenballen, wobei die Zelle ihren Turgor vorerst noch behält. Die Gifte, welche Nägeli anwandte, waren anfangs einige Silber- und Quecksilbersalze, dann einige Metalle, die im Wasser in unendlich kleiner Menge aufgelöst waren, denn es genügte, ein Stückchen dieser Metalle einige Zeit in eine große Wassermenge zu legen, damit dies Wasser oligodynamische Eigenschaften zeigte. Analoge Untersuchungen wurden neuerdings von Israel und Klingmann ausgeführt. Verf. suchte ebenfalls festzustellen, wie die oligodynamischen Erscheinungen an Spirogyrazellen in Lösungen von metallischem Kupfer sich in Bezug auf die Zeiten und die Konzentration verhielten. Diese Konzentration wurde bestimmt nach der Methode von Bredig. Das verwendete Wasser besaß eine elektrische Leitfähigkeit von $2{,}2 \cdot 10^{-6}$. Der Titer der Lösung betrug 0,05—0,07 g Cu im Liter. Um die Wirkung dieser kolloidalen Lösungen mit solchen von Kupfersulfat zu vergleichen, wurden Lösungen dieses Salzes bereitet, die die gleiche Menge Cu enthielten, indem eine sorgfältig titrierte Stammlösung verdünnt wurde. So wurden 2 Reihen von Lösungen mit gleichem Kupfergehalt erhalten, bei denen aber das eine Mal dieses Element in kolloidalem Zustand,

das andere Mal in Form von Ionen enthalten war. Abgeschnittene Spirogyrafäden wurden nach sorgfältiger Reinigung in Uhrgläser gebracht, in welche die zu untersuchende Lösung gegossen wurde. Dort blieben sie für die Dauer des Versuchs. Nach bestimmten Zeitabschnitten wurden Fäden im Mikroskop untersucht. Die Resultate der Versuche sind in 2 Tabellen niedergelegt. Veränderungen, die zuerst in den vergifteten Zellen auftreten, werden als Plasmoschise und die endgiltigen kadaverösen Erscheinungen als Plasmolyse bezeichnet. — Aus Tabelle I ergiebt sich, daß bei den konzentrierten Lösungen (Cu in 1260 L, Cu in 63000 L) die Zellveränderungen rascher eintreten, wenn das Kupfer im Ionenzustand, als wenn es im kolloidalen Zustand sich befindet. Bei einigen schwächeren Lösungen (Cu in 1260000 L, Cu in 6300000 L) tritt die Plasmolyse in beiden Fällen zu gleicher Zeit ein. Bei noch höheren Graden der Verdünnung werden die Lösungen von $CuSO_4$ ganz unwirksam, während die des kolloidalen Cu noch giftig wirken, doch nur auffallend langsam. Das verschiedene Verhalten beider Lösungen könnte man folgendermaßen erklären: In den genügend konzentrirten Lösungen können sich, wenn das Kupfer in Ionenform vorhanden ist, rascher und leichter Verbindungen desselben mit Protoplasmamolekeln bilden, und so erfolgt eine rasche Vergiftung der Zelle. Das kolloidale Kupfer dagegen tritt vermutlich schwieriger in Verbindungen mit dem Protoplasma ein. Für die allerverdünntesten Lösungen kann man annehmen, daß, wenn auch die wenigen in ihnen enthaltenen Cu-Ionen zum Teil von Protoplasmamolekeln gebunden werden, doch die so vergifteten Molekeln nur spärlich sind gegenüber der gesamten Zellmasse und deshalb die Zellen diese teilweise Vernichtung ihrer lebenden Substanz vertragen können. Die noch immer beträchtliche Wirkung des kolloidalen Cu auch in äußerst verdünnten Lösungen (Cu in 126000000 L) dagegen kann nur erklärt werden durch die Annahme einer katalytischen Wirkung dieses Metalles auf das Zellprotoplasma. Verf. untersuchte ferner, ob ein geringer Zusatz von NaCl, das jedenfalls für die Spirogyren unschädlich ist, die Wirkung des kolloidalen Kupfers aufzuheben versuchte. Es wurden die Versuche wiederholt, nur wurden zur Verdünnung der Lösungen von kolloidalem Cu und von $CuSO_4$ destilliertes Wasser verwendet mit 0,1 g NaCl auf den Liter. Die Resultate der Versuche sind in Tabelle III niedergelegt. Es ergiebt sich daraus, daß der Zusatz einer Spur NaCl die Wirksamkeit der konzentrierten Lösungen nicht beträchtlich verringert. Bei den genügend verdünnten Lösungen dagegen nimmt die Giftwirkung rasch bis zur Unwirksamkeit ab, wenn es sich um kolloidales Cu handelt, während sie in den entsprechenden $CuSO_4$-Lösungen ungeändert bleibt. Daraus geht hervor, daß das NaCl die Wirkung des kolloidalen Kupfers verhindert, vermutlich indem es den Zustand der kolloidalen Lösung selbst verändert. Haeusler (Ludwigshafen).

Hecke, L., Beizversuche zur Verhütung des Hirsebrandes (Ustilago Crameri und Ustilago Panici

miliacei) (Zeitschrift für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. 1902. p. 933).

1) Die Wirkung des Formalins auf die Keimfähigkeit der Hirsebrandsporen.

Die Versuche gingen hauptsächlich dahin, die Wirkung kurzer Beizdauer zu untersuchen, da speciell für Hirse die lange Kühnsche Beizdauer noch viel unangenehmer, als bei anderen Getreidearten ist. Die Versuche wurden in der Weise durchgeführt, daß die Sporen in der Beizflüssigkeit vollständig untergetaucht waren. Hierauf wurden die Sporen auf Filterpapier möglichst schnell bei Zimmertemperatur getrocknet. Die Kontrollversuche wurden mit Wiener Hochquellwasser behandelt und ebenfalls getrocknet, welche Operationen keinen Einfluß auf die Keimfähigkeit der Sporen hatten. Die Abtötung der Sporen von U. Crameri findet bei 1 Proz. Formalin nach 15 Minuten, bei $^1/_2$ Proz. in 3 Stunden statt. Sieht man davon ab, die Sporen zu töten, sondern rechnet man blos mit einer Keimungsverzögerung, welche praktisch genügt, um eine brandfreie Ernte zu erhalten, so wären für praktische Zwecke folgende Beizen ausreichend: $^1/_2$Proz. durch 15 Minuten, $^1/_4$ Proz. durch eine Stunde, und vielleicht auch $^1/_8$ Proz. durch 3 Stunden. Hierbei darf aber nach der Beize kein Auswaschen mit Wasser stattfinden, nachdem dadurch die Keimfähigkeit der Sporen bedeutend gehoben wird. Wird ein Auswaschen vorgenommen, so erfolgt die Abtötung dann erst bei einer mehr als 1-stündigen Einwirkung einer 1-proz. Beize oder einer 3-stündigen Einwirkung einer $^1/_2$-proz. Beize. Praktisch verwendbar dürfte bei nachherigem Auswaschen erst eine 1-proz. Beize durch 15 Minuten, oder $^1/_2$ Proz. durch 1 Stunde, oder $^1/_4$ Proz. durch 3 Stunden sein. Die Abtötungsgrenzen bei U. Panici miliacei sind die gleichen wie bei U. Crameri.

2) Die Wirkung der Formalinbeize auf die Keimung der Hirse.

Versuche mit zwei Hirsemustern haben ergeben, daß dieselben eine ganz bedeutend verschiedene Empfindlichkeit gegen Formalin besitzen, doch ist vorläufig nicht zu entscheiden, ob dieser Unterschied in den Sorten oder in der mangelhaften Beschaffenheit des Saatgutes liegt. Versuch mit selbstgewonnener gut keimender Hirse haben gezeigt, daß fast jene Beizen angewendet werden können, welche die Sporen zu töten imstande sind (1 Proz. 15 Minuten, $^1/_2$ Proz. 1 Stunde), und daß ganz unbedenklich jene Beizen sind, welche eine solche Keimverzögerung der Sporen hervorrufen, daß eine Infektion ausgeschlossen erscheint, also Beizen von $^1/_2$ Proz. durch 15 Minuten, $^1/_4$ Proz. durch 1 Stunde und $^1/_8$ Proz. durch 3 Stunden, ohne daß eine Schädigung des Saatgutes zu befürchten wäre. Durch die Beize mit nachfolgendem Auswaschen ist in vielen Fällen (besonders bei kurzer Beizdauer) sogar eine günstige Wirkung der Beize auf die Keimungsenergie gegenüber ungebeiztem Saatgut zu konstatieren gewesen.

3) Die Wirkung des Kupfervitriols auf die Keimfähigkeit der Hirsebrandsporen.

Die erhaltenen Resultate sprechen sich nicht besonders günstig für diese Beize aus, welche in denselben Koncentrationsverhältnissen und derselben Zeitdauer wie das Formalin zur Anwendung kam. Es konnte die normale Keimung nicht völlig verhindert werden, wie auch abnorme Keimung überall reichlich eintrat. Ein auffallendes Moment ist ferner, daß nachheriges Auswaschen gar keine Wirkung auf die Keimfähigkeit der Sporen ausübt.

4) Beitrag zur Kenntnis der Kupferwirkung auf Brandsporen.

Bei den Kupfervitriol-Beizen war die Erscheinung charakteristisch, daß zwischen einer längeren oder kürzeren Beizdauer nur ein geringer Unterschied beobachtet werden konnte und liegt die Ursache dieser auffallenden Erscheinung darin, daß die Sporen imstande sind, die ansehnlichen Mengen von wenigstens 2,5 Proz. ihres Gewichtes an Kupfervitriol zu zerlegen und in sich zu speichern; wahrscheinlich ist es das Exosporium, welches bei der Absorption beteiligt ist. Die verschiedenen Brandarten sind in verschiedenem Grade befähigt, Kupfer zu absorbieren und scheint diese Fähigkeit in Uebereinstimmung mit eine größeren Empfindlichkeit gegen Kupfersulfat zu liegen. Das von den Sporen absorbierte Kupfer wird mit großer Energie festgehalten und kann nicht durch nachheriges Waschen mit Wasser entfernt werden. Diese Fähigkeit der Sporen hat insofern große praktische Bedeutung, als hierdurch ermöglicht wird, das Kupfervitriol von den Körnern auszuwaschen, ohne dadurch den Sporen das Kupfer zu entziehen. Dagegen gelingt es, durch Behandlung der Sporen mit 0,5-proz. Salzsäure das Kupfer zu entfernen und die Sporen wieder keimfähig zu machen, wobei es ganz gleichgiltig ist, ob die Sporen einer kurzen oder sehr langen Beizdauer mit Kupfervitriol unterworfen waren. Es beeinträchtigt oder vernichtet daher das Kupfervitriol die Lebensfähigkeit der Sporen in keiner Weise und ist das Präparat keineswegs ein Fungicid in der wörtlichen Bedeutung, sondern eher ein Konservierungsmittel, um die Keimkraft latent zu halten und sie nach Belieben wieder zu wecken. Welche Vorgänge die Wirkung des Kupfervitriols aufheben, entzieht sich vorläufig jeder Beurteilung und muß die Aufklärung noch weiteren Untersuchungen anheimgestellt werden. Stift (Wien).

Reh, L., Versuche über die Widerstandsfähigkeit von Diaspinen gegen äußere Einflüsse. (Biolog. Centralbl. Bd. XX. p. 741.)

Die Versuche umfaßten verschiedene Arten von Diaspinen auf amerikanischen Aepfeln, auf Apfelzweigen aus Geisenheim a. Rh. und auf Apfelsinen von den Mittelmeerländern. Die Tiere dieser Unterfamilie sind von einem mehr oder weniger fest aufsitzenden Schild bedeckt, welches namentlich chemischen Mitteln mehr oder

minder großen Widerstand entgegensetzt. Die Versuche wurden so angestellt, daß besetzte Aepfel oder Zweig- oder Aststücke den betreffenden Behandlungsweisen ausgesetzt wurden. I. Temperaturversuche: Alle Läuse, auch die wärmeren Klimaten angehörigen, ertrugen eine Temperatur von -14^{0}. Bei $+52^{0}$ sind einige Läuse nach $^{3}/_{4}$-stündiger Wirkung abgestorben. $54-55^{0}$ bilden wohl das Temperaturmaximum, welches Schildläuse ertragen können. II. Versuche mit Flüssigkeiten: Formol ist losgelösten Tieren nicht schädlich. Werden Aepfelstücke in Formol gelegt, so sterben alle Tiere ab, bei Zweigstücken bleiben alle leben. Petroleum, in genügender Menge angewendet, tötet die meisten Tiere, dringt jedoch nicht zu solchen, welche tief unter alten Schildkrusten versteckt sitzen. Die Versuche mit Alkohol ergaben verschiedene Resultate. Einige Arten wurden getötet, während andere am Leben blieben. Schwefelsäure wirkt energischer als Petroleum. Salpetersäure tötete nach 2-stündigem Eintauchen alle Läuse. Kali- bezw. Natronlauge: versteckt sitzende Tiere zeigten noch am 3. Tage Zuckungen der Rißwunden. Chloroform: die Läuse schienen am 3. Tage noch zu leben. Toluol tötete die Läuse. Glycerin wirkt für die Mehrzahl der Tiere tötend. III. Versuche mit gasförmigen Stoffen. Blausäure tötet nach ungefähr 5-stündiger Einwirkung die beschildeten Läuse, nach etwa 1 Stunde die unbeschildeten. Alkohol tötet nach einer Einwirkungsdauer bis zu 43 Stunden alle Läuse. Formoldämpfe, Chloroform und schweflige Säure wirken ebenfalls nach längerer oder kürzerer Dauer der Einwirkung tödlich. IV. Versuche mit Luftabschluß ergeben, daß das Ueberziehen mit Fetten oder Oelen ein, wenn auch langsam, so doch sicher wirkendes Bekämpfungsmittel ist, dessen Anwendung namentlich am älteren Holze wohl zu empfehlen sein dürfte. V. Versuche mit Austrocknen (Wasserentziehung). Läuse auf abgelösten, dicken Schalen waren nach 21 Tagen tot. Bei Ablösung des Schildes vertrocknen die Tiere nach 5—10 Tagen. Durch Umsetzen an einen anderen Ort wurden die Läuse nach 6—8 Tagen getötet. Das Vertrocknen von Blättern und Zweigen hat auch das Vertrocknen der Tiere zur Folge. VI. Versuche mit Fäulnis. Die Tiere besitzen gegen dieselbe eine ziemlich große, mindestens 10 Tage dauernde Widerstandsfähigkeit. — Eine ausführliche Tabelle giebt eine Uebersicht über die Versuchsresultate. Haeusler (Ludwigshafen).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Carnot, P. et **Garnier, M.**, De l'emploi des tubes de sable comme méthode générale d'étude, d'isolement et de sélection des microorganismes mobiles. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 24. p. 860—863.)

Encyklopädie der mikroskopischen Technik mit besonderer Berücksichtigung der Färbelehre. Hrsg. v. Paul Ehrlich, Rud. Krause, Max Mosse, Heinr. Rosin, Carl Weigert. (In 3 Abtlgn.) 1. Abtlg. p. 1—400 m. Abbildgn. gr. 8°. Wien (Urban & Schwarzenberg) 1902. 10 M.

Kaiser, Wilh., Die Technik des modernen Mikroskopes. 2. Aufl. 4. Lfg. p. 241—320 m. Abbildgn. gr. 8°. Wien (Moritz Perles) 1902. 2 M.

Matzuschita, Teïsi, Bakteriologische Diagnostik. Zum Gebrauche in den bakteriologischen Laboratorien und zum Selbstunterrichte. Für Aerzte, Tierärzte u. Botaniker. XVII, 692 p. m. 1 Taf. gr. 8°. Jena (Gustav Fischer) 1902. 15 M.

Smith, A. J., Suggestions for certain cheap and convenient forms of apparatus for class work in the bacteriological laboratory. (New York med. Journ. 1902. No. 24. p. 1060—1064.)

Toepper, P., Nochmals die Impfspritze von Pflanz. (Berl. tierärztl. Wchschr. 1902. No. 15. p. 231—233.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Fuhrmann, O., Sur un nouveau bothriocéphalide d'oiseau (Ptychobothrium armatum). (Arch. de parasitol. 1902. T. V. No. 3. 1902. p. 440—448.)

Gibson, A., Note on the larvae of Penthina Hebesana, Walk. (Canad. entomol. 1902. No. 7. p. 182.)

Grünberg, K., Ein neuer Anopheles aus Westafrika, Anopheles Ziemanni nov. spec. (Zoolog. Anzeiger 1902. No. 677. p. 550—551.)

Guilliermond, A., Sur la présence des corpuscules métachromatiques dans les bactéries. (Lyon méd. 1902. No. 28. p. 29—32.)

Jahn, E., Die Morphologie der Hefe und die Entdeckung ihrer Sexualität. (Naturwissensch. Rundschau. 1902. No. 22. p. 273—276.)

Laveran, A., Sur des culicides des Nouvelles-Hébrides. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 25. p. 908—910.)

— —, Sur des culicides de l'Amou-Daria (Asie centrale). (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 25. p. 910.)

Lindau, G., Ueber Abwässerorganismen und die Erforschung ihrer Biologie. (Naturwissensch. Wchschr. 1902. No. 28, 29. p. 327—330, 340—343.)

Looss, A., Die Distomen-Unterfamilie der Haploporinae. (Arch. de parasitol. T. VI. 1902. No. 1. p. 129—143.)

de Marval, L., Etude sur quelques échinorhynques d'oiseaux. (Arch. de parasitol. T. V. 1902. No. 3. p. 412—439.)

Massart, J., Recherches sur les organismes inférieurs. IV. Le lancement des trichocystes chez Paramaecium Aurelia. V. Sur le protoplasme des schizophytes. (Rec. de l'Instit. botan. Bruxelles. T. V. 1902.)

Meijer, A., A propos de la fabrication de la levure. (Journ. de la distill. franç. 1902. No. 939, 943. p. 261—262, 310—311.)

Neumann, L. G., Notes sur les ixodidés. (Arch. de parasitol. T. VI. 1902. No. 1. p. 109—128.)

Neveu-Lemaire, M., Description de quelques moustiques de la Guyane. (Arch. de parasitol. T. VI. 1902. No. 1. p. 5—25.)

Perrone, E., Sui costumi delle larve delle zanzare del genere Anopheles in relazione con le bonifiche idrauliche. (Annali d'igiene sperim. Vol. XII. 1902. fasc. 2. p. 161—194.)

Prowazek, S., Notiz über die Trichomonas hominis (Davaine). (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902. Heft 1. p. 166—168.)

Schröder, R., Zur Kenntnis der Proteinsubstanzen der Hefe. (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Ztschr. f. d. ges. Biochemie, hrsgeg. v. F. Hofmeister. Bd. II. 1902. Heft 7/9. p. 389—403.)

de Schweinitz, E. A. and **Dorset, M.**, The composition of the tubercle bacilli derived from various animals. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 3. p. 186—192.)

Souchon, E., On the transportation of mosquitos by vessels. (Med. record. Vol. LXII. 1902. No. 1. p. 8—9.)

Soulié, H., Recherches sur les culicides de l'Algérie. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 2. p. 118—120.)

Stevens, F. L., Gametogenesis and fertilization in Albugo. (Botan. gaz. Vol. XXXII. 1902. No. 2. 3. p. 77—98, 157—169.)

Stiles, Ch. W., Eimeria Stiedae (Lindemann, 1865), correct name for the hepatic coccidia of rabbits. (U. S. Departm. of Agricult. Bur. of anim. ind. Bullet. 1902. No. 35. p. 18.)

Stossich, M., Sopra una nuova specie delle Allocreadiinae. (Arch. de parasitol. T. V. 1902. No. 4. p. 578—582.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Wein, Weinbereitung.

Laborde, J., Sur la guérison de la casse des vins par l'addition d'acide sulfureux. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 2. p. 116—118.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

v. Czadek, O. u. Kornauth, K., Ueber fadenziehendes Brot. (Ztschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. 1902. Heft 7. p. 885—903.)

Reichert, F., Einiges über die Beziehungen zwischen Klebergehalt und Backfähigkeit. (Fühling's landwirtsch. Ztg. 1902. Heft 16. p. 565—579.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Dupont, C., Sur les fermentations aérobies du fumier. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXIV. 1902. No. 24. p. 1449—1451.)

Mayer, E. u. Wolpert, H., Ueber die Verfahren und Apparate zur Entwickelung von Formaldehyd für die Zwecke der Wohnungsdesinfektion. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIII. 1902. Heft 2. p. 157—169.)

Scheurlen, Der Stand der Abwasserreinigungsfrage auf Grund praktischer Versuche in Württemberg. (Verhandl. d. Ges. dtsch. Naturforscher u. Aerzte zu Hamburg 1901. Tl. 2. Hälfte 2. p. 557—561). Leipzig (F. C. W. Vogel) 1902.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Jacobitz, Ueber stickstoffsammelnde Bakterien und ihre Bedeutung für die Landwirtschaft. (Münch. med. Wchschr. 1902. No. 36. p. 1504—1506.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Banks, N., Principal insects liable to be distributed on nursery stock. (U. St. Departm. of Agricult. Divis. of entomol. Bullet. No. 34. 1902. N. S. 46 p. 8^{0}. Washington.)

Capus, J., De l'effeuillage de la vigne, son rôle dans la lutte contre les parasites animaux et végétaux. (Rev. de viticult. 1902. No. 450. p. 121—123.)

Culturalverfahren, das, oder die Bekämpfung der Reblaus mittelst Schwefelkohlenstoff. (Allg. Wein-Ztg. 1902. No. 33. p. 321—323.)

Geerkens, A., Der Kampf gegen das Unkraut auf Weide und Wiese. (Hannoversche land- u. forstwirtsch. Ztg. 1902. No. 34. p. 610—613.)

Guillon, J. M., Sur la possibilité de combattre par un même traitement liquide le mildew et l'oïdium de la vigne. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 4. p. 261—262.)

Houard, C., Sur deux zoocécidies recueillies en Corse. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1902. No. 3. p. 36—38.)

Moritz, J., Ueber die Wirkung von Schwefelkohlenstoff auf Schildläuse. (Aspidiotus perniciosus Comst.). (Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. a. Kaiserl. Gesundh.-A. Bd. III. 1902. Heft 2. p. 130—137.)

Weiss, Die Schorfkrankheit Fusicladium dendriticum an Apfelbäumen und Fusicladium pirinum an Birnbäumen. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1902. Heft 8. p. 60—62.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 15. November 1902. **No. 19.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark. Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Nachdruck verboten.

Pseudomonas Fragariae. Eine Erdbeergeruch erzeugende Bakterie.

[Arbeit aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen, Kiel. Vorstand: Professor Dr. Weigmann.]

Von Dr. **Th. Gruber.**

Mit 2 Tafeln.

Bei einer Untersuchung verschiedener Arten von Futterrüben zwecks Feststellung der Bakterienflora wurde eine Steckrübe ganz und ungewaschen in steriles Wasser gebracht und sich selbst bei gewöhnlicher Zimmertemperatur überlassen. Nach Verlauf von

14 Tagen besaß das Wasser einen jauchenartigen, urinartigen Geruch, von demselben wurden Gelatineplatten in den üblichen Verdünnungen angelegt. Auf sämtlicher Gelatine waren dieselben eigentümlichen Kolonieen beinahe in Reinkultur vertreten, die Kolonieen waren insofern eigentümlich, als die ursprüngliche Kolonie ein konzentrischer Kranz von feinen kleinen Pünktchen, gleichsam feinen Spritzern, umgab. Beim Oeffnen der Platten strömte dem Beobachter ein angenehmer, deutlicher Geruch nach Erdbeeren entgegen, der allerdings mit dem Alter der Kultur verschwand, um einem urinartigen, ammoniakalischen Geruch Platz zu machen. Von diesen Kolonieen wurden abermals Platten angelegt und es zeigte sich, daß das eigentümliche Wachstum beibehalten war und dieselben den Urheber des Erdbeergeruches bildeten.

Wie nun aus der beifolgenden Charakterisierung dieses Bakteriums zu ersehen ist, reiht es sich in die Kategorie der fluorescierenden, Gelatine nicht peptonisierenden Arten, speziell in die Gattung „Pseudomonas“, da es 1—9 polare Geißeln aufweist. Eine Sporulation in irgend einem Nährmedium war weder bei hoher noch niederer Temperatur zu erzielen.

Allen jungen Kulturen verleiht diese Pseudomonas einen mehr oder minder starken angenehmen Erdbeergeruch. Reiman [1]) erwähnt in seiner Arbeit über die Ursachen des Ranzigwerdens der Butter einen Bacillus, der in der Butter einen erdbeerartigen Geruch hervorbringt, eine eingehendere Beschreibung ist in jener Arbeit aber nicht vorhanden. Erwähnter Autor schildert ihn als einen coliähnlichen Bacillus, mit dem Vermögen, der Butter den angenehmen Erdbeergeruch zu verleihen. Sterile Butter, gesalzen und ungesalzen, mit Pseudomonas Fragariae geimpft, besitzt nach 14 Tagen einen angenehmen, aromatischen Geruch, der später an Erdbeeren erinnert. Nach längerem Stehen bemerkt man beim Oeffnen des Kolbens, in dem die geimpfte sterile Butter aufbewahrt wurde, einen deutlichen aromatischen Geruch nach Weiden, ein ammoniakalischer Geruch konnte selbst nach Wochen nicht festgestellt werden.

10-proz. Gelatineplattenkolonieen 18—22° C.

Beim Oeffnen der Platte, 3. Verdünnung, nimmt man innerhalb 48 Stunden einen deutlichen Erdbeergeruch wahr, der aber schon bei der 1. und 2. Verdünnung während derselben Zeit in einen ammoniakalischen, urinartigen Geruch übergegangen ist. In der Gelatine befinden sich kleine, weiße, pünktchenförmige Tiefenkolonieen, während schon $^1/_2$ mm im Durchmesser fassende, runde, deutlich erhabene, glänzende, wassertropfenähnliche, durchscheinende, im durchfallenden Lichte bläulich schimmernde Kolonieen die Oberfläche bedecken. Bei 80facher Vergrößerung erscheinen die Tiefenkolonieen als völlig runde, glattrandige, schwarz konturierte,

1) Centralbl. f. Bakter. II. Abt. Bd. VI. 1900. p. 210 und 211.

homogene, strukturlose, ebene Scheiben; bei den Oberflächenkolonieen hingegen hat sich der Rand an einzelnen Stellen etwas ausgestülpt. Bei dichter Aussaat ist dieselbe Wachstumformation vorhanden, die Fluorescenz tritt natürlich in den ersten Verdünnungen am stärksten hervor; am 3. Tage ist die 3. Verdünnung deutlich fluorescierend, und es scheint, als ob mit der Intensität der Fluorescenz der Erdbeergeruch abnehme, der ammoniakalische hingegen die Oberhand gewänne und alsdann an Stärke zunehme. Nach Verlauf von 7 Tagen haben die Oberflächenkolonieen einen Durchmesser von 1 mm erreicht; die Tiefenkolonieen sind makroskopisch dieselben geblieben, mikroskopisch aber haben sie konzentrische Schichtung angenommen, dunklen breiten Kern und hellen schmalen Rand; die Oberflächenkolonieen besitzen diese konzentrische Schichtung nicht.

3-proz. Traubenzucker-Gelatineplattenkolonieen 18—22°.

Liegen die Tiefenkolonieen dicht gesät aneinander, wie in der 2. Verdünnung, so sind dieselben als kleine runde, weiße Pünktchen wahrnehmbar, in der 3. Verdünnung sehen die Tiefenkolonieen wie kleine grauweiße Schneeflocken aus. Mikroskopisch besitzen diese Kolonieen tangentiale, wurmartig gedrehte Fortsätze (Fig. 1. 70fache Vergrößerung). Nach 3 Tagen wachsen die Fortsätze der Tiefenkolonieen in manchmal gedrehte, dünne, längere Fäden aus, so daß die Kolonieen spinnenartigen Gebilden gleichen. Die Platten selbst weisen einen angenehmen Geruch nach frischem Brote auf. Die Tiefenkolonieen nehmen ab und zu maulbeerartige Formen an, welche Form nach Erweichen der Gelatineoberfläche als Kern erhalten bleibt, um den eine flach ausgebreitete, breite konzentrische Schichtung heranwächst; makroskopisch ist im durchfallenden Lichte dieser Kern als feiner weißer Punkt erkennbar. Die Fluorescenz tritt verhältnismäßig spät, erst am 7. Tage ein, zugleich bemerkt man den ammoniakalischen Geruch. Dasselbe Wachstum ist in Milchzucker-Gelatineplatten vorhanden.

3-proz. Milchzucker-Gelatinetupfkolonieen 18—22° C.

An den betupften Stellen sind nach 2 Tagen bis $2^1/_2$ cm im Durchmesser fassende, runde, konzentrisch geschichtete, sehr flach ausgebreitete, am Rande schleierartige, grünlich schimmernde, grauweiße, in die Gelatine eingesunkene Kolonieen herangewachsen (Fig. 2, natürliche Größe). Die Kolonieen erscheinen grün fluorescierend, nicht aber deren Umgebung; ein deutlicher Erdbeergeruch erfüllt die Platte. Bei 80facher Vergrößerung haben diese Tupfkolonieen ein gleichmäßig gekörntes Gefüge, im Innern sind sie dunkel, gegen den Rand hin hell und durchsichtig werdend, allmählich sich verlierend. Eine wesentliche Aenderung des Randes der Tupfkolonieen bemerkt man am 3. Tage. Konzentrisch um den Rand ist eine Zone gelagert, die aus feinen

weißen Spritzern besteht (Fig. 3, schwache Vergrößerung). Diese sogenannten Spritzer bestehen mikroskopisch aus losen, wurmartig geringelten, einzelnen Gebilden (Fig. 4, 30fache Vergrößerung). Später nehmen diese Schwärmer rundliche Gestalt an und bilden ihrerseits wieder Schwärmer.

Am 5. Tage erreichen die Tupfkolonieen eine Größe von 4 bis 5 cm, sie scheinen unter der Gelatineoberfläche hinzuwachsen und sich flach auszubreiten, um diese Zeit tritt der ammoniakalische, urinartige Geruch mehr in den Vordergrund.

Eine 2-tägige Kultur zeigt Stäbchen mehr oder minder oval neben Diplostäbchen, 2,6/1,25 μ; in einzelnen Stäbchen ist das Protoplasma granuliert.

Tupfkolonieen auf gewöhnlicher Gelatine besitzen dieselbe Wachstumformation, nur tritt die Ueppigkeit des Wachstums bedeutend in den Hintergrund, die Fluorescenz hingegen ist bedeutend ausgeprägter.

3-proz. Traubenzucker-Gelatine-Tupfkolonieen 18—22° C.

Das Wachstum ist verhältnismäßig schlecht. Nach 4 Tagen erreichen die Kolonieen einen Durchmesser von 3—4 mm, sind grauweiße, glänzende, gelappte und gebuchtete, vaselinartig weiche, breiige Scheiben, deren Umgebung, gegen schwarzen Hintergrund gehalten, schwach blau fluoresciert, ein schwacher Erdbeergeruch ist um diese Zeit vorhanden. Die blaue Fluorescenz bleibt erhalten, da der Traubenzucker zu Säure oxydiert wird. Ist kein Traubenzucker vorhanden, so geht die blaue Fluorescenz bald in die grüne über, da Pseudomonas ein Alkalibildner ist. Mikroskopisch sind diese Kolonieen scharf abgegrenzt, glattrandig, gelappt, homogen, strukturlos.

10-proz. Gelatinestrichkultur.

Bei 12,5—15° C ist das Wachstum weniger stark und weniger ausgeprägt wie 18—20° C. Nach 4 Tagen ist längs des Impfstriches ein grauweißer, gallertartig aussehender, gleichmäßig erhabener, an den Rändern fein ausgestülpter, breiiger Belagstreifen herangewachsen, unter dem die Gelatine an dem oberen Teil schön hellgrün fluoresciert, nach unten hin verschwindet die Fluorescenz allmählich. Beim Lüften des Wattepfropfens ist der charakteristische Geruch nach Erdbeeren deutlich wahrzunehmen. Nach 20 Tagen hat die Breite des Belages erheblich zugenommen, am Rande sind Ausbuchtungen entstanden, die moosähnliche Formationen zeigen, eine Verflüssigung der gleichmäßig schön hellgrün fluorescierenden Gelatine findet nicht statt; der ammoniakalische Geruch ist alsdann wieder vorzufinden.

3-proz. Milchzucker-Gelatinestrichkultur 18—22° C.

Am 3. Tage ist ein 3—4 mm breiter, grauweißer, grünlich schimmernder, glänzender Belagstreifen zu bemerken, von dessen

Rändern feine Ausläufer, die nach der Spitze des Striches zu gerichtet sind, in die Gelatine hineinragen, so daß die ganze Kultur einer Gänsefeder gleicht (Fig. 5, nat. Gr.). Am Ende dieser Ausläufer stellen sich die Schwärmer als feine, kleine, weiße Pünktchen dar, später tritt eine Verdickung an den Enden der Ausläufer ein. Die grüne Fluorescenz beginnt von oben und durchdringt nach und nach das ganze Nährmedium. Der angenehme Geruch nach Erdbeeren weicht mit der Zeit dem weniger angenehmen ammoniakalischen Geruche, eine Verflüssigung des Nährbodens kann auch hier nicht konstatiert werden. Bei 80-facher Vergrößerung kann man deutlich die gedrehten, manchmal maulbeerartigen kleinen Kolonieen, die Schwärmer, unterscheiden.

Im hängenden Tropfen beobachtet, zeigen die Stäbchen einer 3 Tage alten Kultur eine lebhafte, schlängelnde Eigenbewegung.

3-proz. Traubenzucker-Gelatinestrichkultur 18—22° C.

Im großen und ganzen ähnelt das Wachstum dem auf Milchzuckergelatine, nur sind die Ausläufer nicht so dicht aneinandergereiht und bedeutend länger, die Schwärmerbildung ist hier ausgeprägter (Fig. 6, nat. Gr.).

Gelatinestichkulturen 18—22° C.

Das Wachstum ist ausschließlich exquisit aërob, im Kanal kommt keine Entwickelung zustande. Um die Stichöffnung gewöhnlicher Gelatine bildet sich nach 8 Tage eine, 4 mm im Durchmesser fassende, gallertartig aussehende, grauweiße, durchsichtige, dünne, glänzende Auflagerung ohne Schwärmerbildung, die Gelatine selbst fluoresciert schön hellgrün. Bei Anwesenheit von Milchzucker ist die Auflagerung bedeutend kräftiger, umgeben mit zahlreichen Schwärmern als kleine, feine, weiße Pünktchen, ein Gehalt an Traubenzucker beeinflußt das Auftreten der Fluorescenz insofern, daß die Intensität bedeutend herabgemindert ist und die bläuliche Abstufung der Fluorescenz mehr zu Tage tritt. Nach 4 Wochen tritt keine Peptonisierung der Gelatine ein.

Agarplattenkolonieen 18—22° C.

2 Tage alte Platten zeigen makroskopisch kleine, runde, pünktchenförmige, weiße Tiefenkolonieen und 1—2 mm im Durchmesser fassende, flache, im Centrum nur schwach gewölbte, runde, glattrandige, grünliche Oberflächenkolonieen von wässerig-breiiger Konsistenz. Bei 80-facher Vergrößerung erscheinen erstere als runde bis ovale, glattrandige, schwarz konturierte, strukturlose Scheiben, letztere nicht mehr vollständig glattrandig, gekörnt und am Rande durchschimmernd. Die Platte wird um diese Zeit von dem angenehmen Erdbeergeruch erfüllt. Nach 3—4 Wochen sind am Rande der Tiefenkolonieen winzige, rundliche bis ovale Ausstülpungen aufgetreten, so daß die Kolonie mit einem förmlichen

Kranz von solchen Ausstülpungen umgeben ist, letzterer schließt direkt an den ursprünglichen Rand an; die Oberflächenkolonieen besitzen diese Ausstülpungen in vermindertem Maßstabe. Die ganze Platte ist schön grün gefärbt.

3-proz. Milchzucker-Agartupfkolonieen 18—22° C.

Innerhalb 24 Stunden breiten sich von den betupften Stellen bis $2^1/_2$ cm im Durchmesser fassende, der ganzen Gestalt nach rundliche bis ovale, mehr oder minder tief eingeschnittene, strahlenförmige Kolonieen mit breiten Lamellen aus (Fig. 7, nat. Gr.). Die Lamellen sind flach und sehr dünn, heben sich kaum vom Agar ab, grauweiß, glänzend und von wässerig-breiiger Konsistenz, welche immer erhalten bleibt. Hält man die Platte vertikal, so laufen die Lamellen leicht ab. Die Platte duftet deutlich nach Erdbeeren und besitzt schwache Fluorescenz.

Im hängenden Tropfen zeigt die junge Kultur lebhaft schlängelnde Bewegung, eine Geißelfärbung ließ 1—3 polare Geißeln erkennen. Fig. 8 (1057-fach vergr.) stellt die Bakterien einer 24 Stunden alten Kultur dar.

Gewöhnlicher Agar läßt die Kolonieen nicht so charakteristisch heranwachsen.

3-proz. Traubenzucker-Agartupfkolonieen 18—32° C.

7 Tage nach der Impfung sind bis 0,9 cm im Durchmesser fassende, schwach gelblichweiße, glänzende, am Rande radiär gefurchte, konzentrisch geschichtete, gelappte und gebuchtete Kolonieen herangewachsen. Im durchfallenden Lichte ist die Furchung und Schichtung deutlicher erkennbar, im auffallenden Lichte hingegen erscheinen die Kolonieen im Innern schwach citronengelb, ihre vaselinartig weiche Konsistenz behalten sie bei.

Agarstichkulturen 18—22° C.

Die ganze Oberfläche bedeckt nach einigen Tagen eine weißliche glänzende Haut, im Kanal findet kein Wachstum statt. Bei Anwesenheit von Milchzucker scheint die Intensität des Wachstums am stärksten vorhanden zu sein. Während bei gewöhnlichem Agar und Traubenzuckeragar die Haut dünn und weiß bleibt, erleidet dieselbe mit Traubenzuckerzusatz gelblich rote Färbung, die Konsistenz bei allen drei Kulturen ist dieselbe vaselinartig weiche. Fluorescenz tritt mit denselben Modifikationen wie bei den verschiedenen Galatinekulturen auf in derselben Reihenfolge der beiden Gerüchte.

In 4 Wochen alten Kulturen zeigten die einzelnen Stäbchen granuliertes Plasma, Sporen finden sich nicht vor.

Agarstrichkulturen 18—22° C.

In diesen Kulturen zeigt sich das Wachstum üppiger wie auf den analogen Gelatinekulturen. Nach 4 Tagen bedeckt ein ziem-

lich breiter, weißer, etwas schleimig aussehender wässerig-breiiger Impfstreifen die schiefe Oberfläche, das Kondenswasser erleidet starke Trübung. Nach drei Wochen hat die Bakterienmasse auf gewöhnlichem Agar ihre weiße Farbe unverändert erhalten; bei Traubenzucker hat auch hier eine gelblichrote Nuance sich herausgebildet. Fluorescenz und Bildung des specifischen Geruches wie im Agarstich.

Kartoffelkultur 18—22° C.

Längs des Impfstriches hat sich während 20 Stunden eine wässerige, breiige, weiße Bakterienmasse angesammelt; es waren dünne Stäbchen mit parallelen Seiten und abgerundeten Enden 1,75/0,45 μ, sämtliche Stäbchen zeigen granuliertes Plasma. Eine Geißelfärbung nach Zettnow ließ eine bis neun polare Geißeln deutlich erkennen (Fig. 9 1057-fache Vergrößerung). Nach Ablauf von 2 Tagen sind gelbliche bis gelblichbraune, breite, glänzende, vaselinartig weiche Belagstreifen herangewachsen mit deutlichem Erdbeergeruch. Ins Bräunliche gehen die Streifen nach 14 Tagen über, in dieser Kultur finden sich keine Sporen vor.

Bouillonkultur bei 18—22° C.

Nach 24 Stunden bemerkt man in der Flüssigkeit eine starke Trübung, die ganze Oberfläche bedeckt eine grauweiße Haut, ein deutlicher Erdbeergeruch erfüllt den Kolben, der in diesem Substrate bald wieder verschwindet, in Milchzuckerbouillon aber nach 6 Wochen noch deutlich vorhanden ist. Die Haut ist am 3. Tage zusammenhängend und schwer zu verteilen, in denselben Zeitraum fällt auf der Eintritt der Fluorescenz bei gewöhnlicher Bouillon, welche bei Zusatz von Milchzucker später und bei Traubenzuckerzusatz noch später eintritt. Die gebildete Oberflächenhaut fällt mit der Zeit zu Boden und bildet ein schleimiges, fadenziehendes Sediment. Sämtliche Kulturen zeigen nach 14 Tagen eine starke alkalische Reaktion, Sporenbildnng erfolgte innerhalb 6 Wochen nicht.

Asparaginlösung 18—22° C.

(Zusammensetzung: Chlornatr. 0,4 g. Natr. phosph. neutr. 2,0 g. Asparagin 0,4, Aq. dest. 100,0.)

Nach Verlauf von 2 Tagen erscheint die Flüssigkeit opalisierend und grünlich gefärbt, ein dünnes, grauweißes Häutchen bedeckt die Flüssigkeitsoberfläche, das aber bei der leisesten Berührung zu Boden sinkt. Der Geruch nach Erdbeeren kommt hier nur schwach zur Entwickelung, der ammoniakalische hingegen tritt hier nicht ein. In einer 4 Wochen alten Kultur sind keine Sporen nachzuweisen.

Quark.

Magermilch wird mit Lab ausgefällt, das ausgefällte Casein

zerteilt, dann gut abtropfen lassen, hierauf erfolgt 3malige Sterilisierung der Quarkes bei 98° C während je 45 Minuten. Innerhalb 22 Stunden bildet sich bei einer Temperatur von 18—20° C ein deutlicher angenehmer Geruch nach Ananasfrüchten, der allerdings nach 2 Tagen in den urinartigen übergegangen ist. Nach 14 Tagen tritt keine Fluorescenz auf, was bemerkenswert ist, da doch der sterilisierte Quark ziemlich starke alkalische Reaktion aufweist, letztere hingegen eine Steigerung der Intensität der Fluorescenz bewirken sollte. Sämtliche Bakterien weisen um diese Zeit nur Degenerationsformen auf.

Sterile Magermilch bei 18—20° C.

Am 6. Tage besitzt die Milch einen eigenartigen Geruch, den spezifischen Geruch der Ausdünstung einer Kuh, wie ihn die frische ungekochte Milch zeigt, der Geschmack ist pikant, etwas bitter, eine solche Milch schmeckt beinahe wie frische Milch mit ihrem eigentümlichen Aroma, Kochgeruch und Geschmack der sterilisierten Milch ist völlig unterdrückt; die Reaktion einer 5 Tage alten Milchkultur ist schwach alkalisch. Nach Ablauf von 4 Wochen ist die Milch schwach bräunlich gefärbt mit etwas stärkerer alkalischer Reaktion, der Geruch nach Kühen ist sehr konzentriert, jedoch der urinartige, ammoniakalische kommt nicht zum Durchbruch. Sporenbildung findet auch hier nicht statt.

Ein Beitrag zur Alinitfrage.

Von **S. Severin.**

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der Kaiserl. russischen Acclimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

Im Jahre 1899 bezogen wir von der Bayer'schen Fabrik in Elberfeld ein Röhrchen Alinit, wie es von dieser Firma in den Handel kommt, und unterzogen dasselbe einer sorgfältigen Untersuchung, um vor allem den Bakteriengehalt dieses Präparates ins Klare zu bringen. Das Ergebnis dieser Untersuchung war folgendes: Sämtliche Plattenkulturen sowohl auf Agar wie auch auf Gelatine hinterließen keinen Zweifel über die Reinheit einer im Alinit enthaltenen Kultur, so sehr waren alle Kolonieen einheitlich; bei Benutzung verschiedener Kolonieen zur Aussaat erhielten wir jedesmal nach morphologischen Merkmalen vollständig einheitliche Kulturen des Bac. Ellenbachensis α, so daß wir fest überzeugt waren, daß das Alinit lediglich eine Reinkultur des Bac. Ellenbachensis α enthalte. Jedoch in der weiteren Folge unserer Arbeit waren wir genötigt, diese Schlußfolgerung wesentlich zu berichtigen. Nämlich bereits in demselben Jahre 1899 oder im Jahre 1900, das ist uns aus dem Gedächtnis gefallen, ließen wir uns eine Kultur des Alinitmikroben (Agarstich) von dem Laboratorium Král in Prag kommen,



Fig. 1.

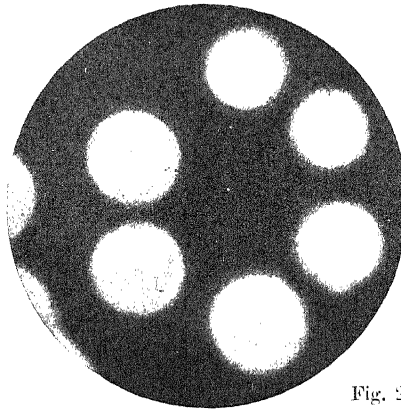


Fig. 2.

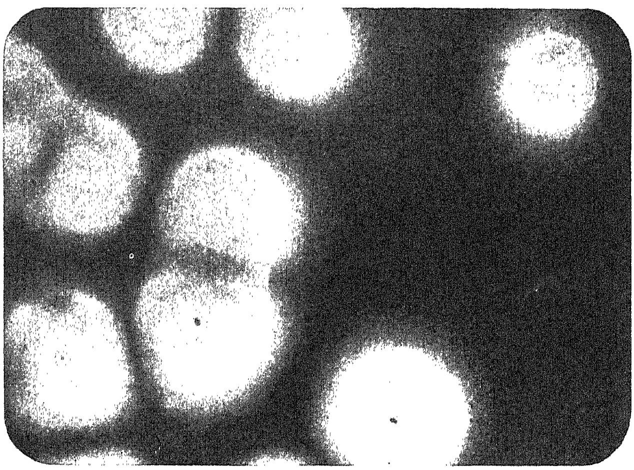


Fig. 3.

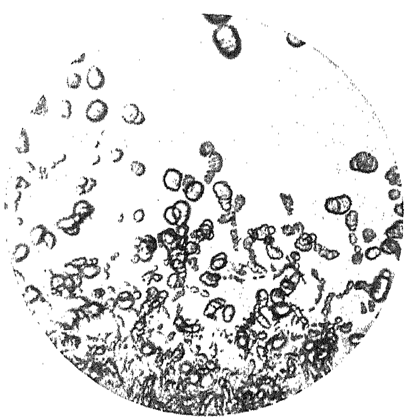


Fig. 4.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

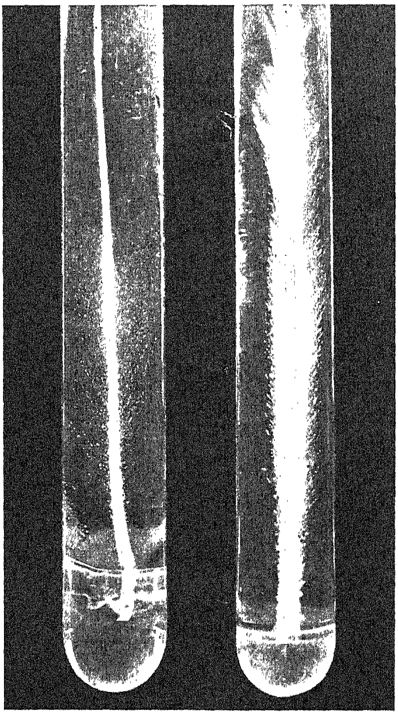


Fig. 6. Fig. 5.

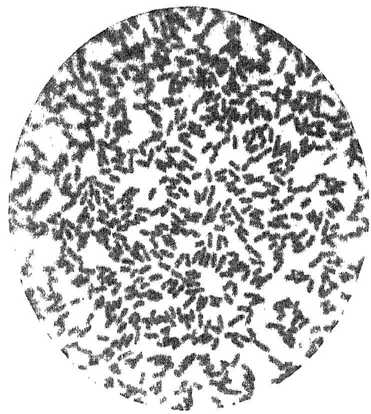


Fig. 8.

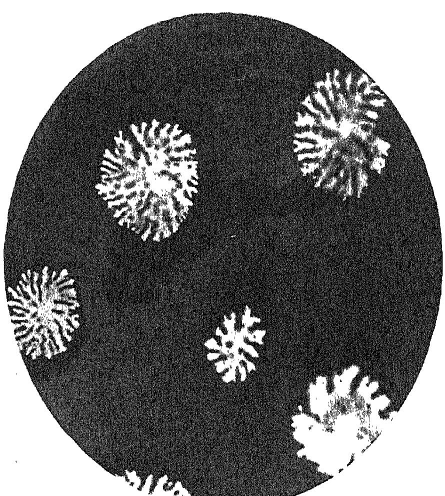


Fig. 7.



Fig. 9.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

dieselbe war als Bac. Ellenbachensis α bezeichnet; als wir nun im Besitz dieser Kultur waren, stellten wir Parallelversuche mit dieser und der vom Alinit gewonnenen Kultur an. Beim Studium ihres Wachstums auf verschiedenen Nährböden stellte sich eine vollkommene Identität zwischen ihnen heraus, bis auf eine nur stark ausgeprägte Differenz, nämlich die, daß der aus dem Alinit kultivierte Bac. Ellenbachensis Nitrate reduzierte, während dem von Král bezogenen Bac. Ellenbachensis diese Eigenschaft vollständig fehlte. Die Konstatierung dieses Unterschiedes ließ in uns natürlich sofort Zweifel über die Exaktheit der von uns vorgenommenen Untersuchung des Alinits aufkommen; wir sagten bereits, daß beide Kulturen allen Merkmalen nach identisch waren. Die Kolonieen in beiden Kulturen sind ihrem Aussehen nach äußerst ähnlich, es ist darum verständlich, daß unschwer der Fehler begangen werden konnte, daß bei der Untersuchung nur eine von diesen Kulturen abgeimpft und die andere übergangen wurde. Mit einem Wort, wir hatten nun eine feste Grundlage für den Verdacht, daß das Alinit am Ende beide obengenannten Kulturen enthalte. Eine nun vorgenommene zweite Alinituntersuchung bestätigte unseren Verdacht vollkommen — auf jeder Platte fanden wir sowohl die eine wie die andere Abart des Bac. Ellenbachensis; wir scheuen uns, die ermittelten Kulturen anders als Abarten zu bezeichnen, so sehr sind sie einander gleich, doch darüber ausführlicher weiter unten. Unter anderem ist die Frage, welche von diesen Mikroben im Alinit quantitativ überwog, schwer zu entscheiden, denn wir erwähnten bereits, daß ihre Kolonieen so gleichartig sind, daß es auf den Platten sehr schwer zu unterscheiden ist, welche Kolonie dem einen Mikroben und welche dem anderen angehört; anscheinlich war in dem von uns untersuchten Alinit der denitrifizierende Mikrobe in etwas größerem Quantum vertreten.

Somit widersprechen unsere Ergebnisse ein wenig der Schlußfolgerung fast aller Alinitforscher, daß in demselben nur ein Mikrob, nämlich der Bac. Ellenbachensis α, enthalten sei. Allerdings fanden Krüger und Schneidewind ebenfalls zwei Mikroben im Alinit, aber einer von denselben war ein nicht peptonisierender, d. h. sicher mit dem B. Ellenbach. α nichts gemeinsam habender und in der Folge von Niemandem mehr im Alinit aufgefundener Mikrob, so daß letzterer ohne Zweifel zufällig als Verunreinigung in das Alinit gelangt ist. Eine derartige Verunreinigung konstatierten Krüger und Schneidewind durch sonderbaren Zufall fast in allen von ihnen untersuchten Alinitproben, indem sie in denselben Schimmelpilze vorfanden, in den zwei zuerst untersuchten Proben waren sogar absolut keine Mikroben vorhanden, sondern nur Schimmelpilze allein. Schon Gottheil spricht ja den Verdacht aus, daß das Alinit vielleicht aus zwei Mikroben, nämlich dem B. Ellenbach. α und dem B. mycoides zusammengesetzt sei, aber das war bloß ein Verdacht, denn direkte Beweise dafür wurden nicht gegeben.

Nun drängt sich unwillkürlich die Frage auf, ob die von uns im Alinit vorgefundenen zwei Mikroben von der Fabrik absichtlich

in das Alinitpräparat eingeführt werden oder ob einer von denselben ebenfalls nur eine zufällige Verunreinigung darstellt, oder ob endlich der B. Ellenbach. α auf natürlichem Wege eine andere Rasse schafft. Wie die Fabrik bei der Zubereitung des Alinits vorgeht, darüber können wir natürlich keine Auskunft geben, und darum können wir nicht mit Bestimmtheit behaupten, ob im Alinit in der That beide obengenannten Mikroben konstante Bestandteile sind, oder ob einer von ihnen eine zufällige Verunreinigung ist. Angesichts dessen, daß bei den einen Alinitforschern der Alinitmikrobe als Denitrifikator erscheint, während andere ihm diese Fähigkeit absprechen, sind wir eher geneigt, die Vermutung auszusprechen, daß das Alinit in der That zwei einander sehr nahe stehende Abarten des B. Ellenbach. enthält, infolgedessen die Autoren zufällig die eine oder andere Abart isolierten, ohne zu ahnen, daß beide zusammen im Alinit enthalten seien.

Bezüglich des Ueberganges einer Rasse in die andere stellten wir zur Klärung dieser Frage einige Versuche an, welche indessen zu einem negativen Resultate führten. In der Voraussetzung, daß ein derartiger Uebergang vielleicht bei Umwandlung der Bakterienkultur in einen trockenen Zustand vor sich gehe, bereiteten wir Trockenkulturen sowohl von der einen als auch von der anderen Rasse und unterzogen dann diese Kulturen einer bakteriologischen Untersuchung — das erste Mal 15 Tage nach der Zubereitung, das zweite Mal nach 2 Monaten. Im allgemeinen überimpften wir während dieser beiden Untersuchungen aus der ersten trockenen Kultur 16 verschiedene Kolonieen auf der Platte, aus der von der zweiten Rasse zubereiteten Kultur 13 Kolonieen; dabei erwies es sich, daß alle ersteren 16 Ueberimpfungen in der That nur diejenige Rasse, aus welcher die trockene Kultur zubereitet war, ergaben, ganz ebenso gehörten die weiteren 13 Ueberimpfungen alle der anderen Rasse an. Somit konnten wir auf diese Weise keinen Uebergang einer Rasse in die andere konstatieren.

In der Folge erregte der sonderbare Zwiespalt, welcher unter den Forschern über die Identifizierung des Alinitmikroben hauptsächlich mit B. megatherium und B. subtilis einerseits und den die Selbständigkeit der Species des Alinitmikroben aufrecht erhaltenden Forschern andererseits aufgetreten ist, unser Interesse und veranlaßte auch uns, vergleichende Versuche anzustellen — erstens über beide von uns aus dem Alint gezüchtete Mikroben untereinander, sowie auch über dieselben und die von Král bezogene Kultur des B. Ellenbach. α und zweitens über alle diese und den B. megatherium. Von Parallelversuchen mit B. subtilis Ehrenberg zu sprechen, wäre mindestens sonderbar, so sehr kraß unterscheiden sich alle obengenannten Kulturen von dem B. subtilis. Die Megatherium-Kultur, mit der wir zu thun hatten, wurde, wenn wir uns nicht irren, vor 15 Jahren aus dem Pasteurschen Institut in Paris bezogen. Im Verlauf dieser Jahre wurde sie auf Agar durch Ueberimpfung als Strichkulturen weitergezüchtet; daß wir es mit einer Kultur des B. megatherium zu thun hatten und nicht mit einer anderen, daran zweifelten wir niemals.

Die Ergebnisse dieser Parallelversuche seien hier ausführlicher wiedergegeben, aber einstweilen werden wir behufs besserer Uebersichtlichkeit bloß zwei Kulturen behandeln, nämlich den B. megatherium und den von uns im Anfang aus dem Alinit gezüchteten Mikroben, d. h. diejenige Rasse des B. Ellenbach., welche die Fähigkeit besaß, Nitrate zu reduzieren. Die Impfungen aller von uns untersuchten Kulturen auf verschiedene Nährböden wurden parallel ausgeführt und alle Wachstumsbedingungen der zu vergleichenden Kulturen waren streng die gleichen. Agar-Agar und Gelatine von schwach alkalischer Reaktion wurden auf Fleischbouillon (aus Kalbfleisch) mit 1 Proz. Pepton und $^1/_2$ Proz. Meersalz zubereitet; Bouillon zur Aussaat ebenfalls von schwach alkalischer Reaktion aus Kalbfleisch mit 1 Proz. Pepton und $^1/_2$ Proz. Meersalz.

Agarstrichkultur: B. Ellenbachensis bildet nach 24 Stunden bei 30° C einen breiten, reichlichen, weißgrauen, opaken Belag, die Ränder entsenden kurze, haarartige Fortsätze, aber nach 1 bis 2 Tagen, mitunter sogar auch am 1. Tage sieht man keine einzelnen Fäden, denn die Ränder bestehen deutlich aus dichten, eng aneinanderliegenden Büscheln. Die B. megatherium-Kultur hat ein ganz anderes Aussehen, sie bildet einen ziemlich breiten, weniger reichlichen, weißen, häufig etwas gelblichen, feuchtglänzenden Ueberzug mit vollständig glatten Rändern; der Megatherium-Rasen ist von etwas schleimiger, weicher Konsistenz, der Ellenbachensis-Rasen dagegen trocken und wird mit dem Platindraht in einzelnen Bröckeln gefaßt.

Die Kolonieen auf Agar (bei 80maliger Vergrößerung) haben nach 24 Stunden bei 30° C folgende Merkmale: 1) B. Ellenbach. Die in der Tiefe des Substrates gelegenen Kolonieen sind oval, spindelförmig oder unregelmäßig abgerundet, hell braungrau, mit gekörnter Oberfläche und scharfen, glatten, bisweilen unregelmäßig gebuchteten Rändern. Dieses Aussehen besitzen die Kolonieen in dem jüngsten Stadium, während der weiteren Entwickelung beginnt jede Kolonie von einer Seite oder auf einmal an der ganzen Peripherie unregelmäßig verflochtene Fäden zu entsenden und dann erscheint die Kolonie wie ein Mooshäuflein, in welchem central oder seitwärts gelegen die ursprüngliche glatte Kolonie zu sehen ist. Häufig ist solch eine ursprüngliche Kolonie gar nicht zu sehen, weil die Entwickelung von vornherein mit der Bildung von verschlungenen Fäden beginnt; Kolonieen an der Oberfläche. Rings um Kolonieen der geschilderten Art geht eine weitere Entwickelung der Fäden vor sich, wobei letztere so stark verfilzt sind, daß einzelne Fortsätze nicht zu sehen sind, die ganze Kolonie scheint aus einer gekräuselten, lockigen Masse zu bestehen. Während der weiteren 24 Stunden sieht man dasselbe Bild, nur nehmen die inneren Kolonieen eine dunklere Farbe an und einzelne oberflächliche Kolonieen wachsen so aus, daß in ihrem centralen Teil keine Locken zu sehen sind, derselbe hat eher eine gekörnte Struktur und bloß näher zur Peripherie kommen die Locken deutlich zum Vorschein. Im allgemeinen sind die Kolonieen denjenigen des B. anthracis sehr ähnlich. 2) B. megatherium. Die tiefen

Kolonieen sind nach 24 Stunden rund, oval, spindelförmig oder unregelmäßig abgerundet, bräunlichgrau, mit deutlich gekörnter Oberfläche, aber an einzelnen Kolonieen, insbesondere an den spindelförmigen, weil dieselben sehr dunkel gefärbt sind, läßt sich gar keine Struktur wahrnehmen. Die Ränder sind scharf, dunkel, regelmäßig, mitunter jedoch stellenweise unregelmäßig gebuchtet; die meisten Kolonieen entsenden von einer oder von 2 Seiten Ausläufer in Gestalt von unregelmäßigen Häufchen von derselben Struktur, wie die Kolonieen selber. Oberflächenkolonieen: Rings um Kolonieen der eben geschilderten Art wächst dieselbe dunkelbraun gefärbte Bakterienmasse weiter, aber erhält eine hellere Färbung als die ursprüngliche Kolonie; der centrale Teil einer erwachsenen Oberflächenkolonie hat eine gekörnte Struktur, aber näher zur Peripherie, wo die Färbung heller ist und die Kulturmasse nicht so reichlich ist, kann man einzelne Fäden und Büschel unterscheiden. Nach 48 Stunden ist die Färbung dunkler, die Struktur gekörnt, Büschel nirgends zu sehen. Gelatinekulturen nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur: 1) B. Ellenbach. Tiefenkolonieen klein, rund, häufig unregelmäßig abgerundet, vollkommen hell, farblos oder gelblichbraun, feingekörnt; die Contouren sind infolge der körnigen Struktur wie feingezähnelt. Oberflächenkolonieen: Rings um Kolonieen der eben geschilderten Art entwickelt sich eine ebenfalls helle gekörnte Masse in Gestalt eines oder mehrerer Büschel oder einfach als kleine, unregelmäßige Lamelle ohne Ausläufer; nach 48 Stunden sind fast alle Kolonieen im ersten Verflüssigungsstadium. Die Tiefenkolonieen sind ganz rund, hell- oder dunkelschwarzbraun, bilden regelmäßige, dicht mit kurzen, geraden Härchen besetzte Scheiben, was besonders gut an der Peripherie zu merken ist, im centralen Teil dagegen kann man infolge der dunklen Färbung die Härchen schlecht erkennen, und darum ist die Struktur daselbst eher eine gekörnte. Die Mehrzahl der Kolonieen zeigt im Centrum einen dunkleren Fleck, ebenso ist eine dunklere Zone an der Peripherie leicht angedeutet, die Oberflächenkolonieen in der Verflüssigungszone sind ebenfalls ganz rund, groß, von hellbrauner Farbe, das Centrum der Kolonieen ist hell, gleichsam leer, die Oberfläche ist deutlich gekörnt, an der Peripherie eine mit geraden, kurzen Härchen besetzte dunkle Zone; nach 3mal 24 Stunden besteht dasselbe Bild, nur sind infolge der stärkeren Verflüssigung die Kolonieen größer und stärker gekörnt geworden, die gefärbte Substanzmasse der Kolonieen ist in Bruchteile in Form von braunen, fleckigen Konglomeraten mit hellen Intervallen zwischen letzteren zerfallen, im Centrum der Konglomerate gar keine Auflagerung. 2) B. megatherium-Kolonieen zeigen sich erst nach 48 Stunden; die in der Tiefe gelegenen Kolonieen sind rund, oval oder unregelmäßig rundlich, die kleinsten Kolonieen sind hellbraungelb, die älteren dunkler bis schwarzbraun gefärbt, ihre Substanz ist feingekörnt, die Contouren scharf, dunkel, regelmäßig, stellenweise ein wenig gebuchtet, rings um einzelne Kolonieen entwickelt sich eine hellgraue, homogene, feingranulierte Masse. Oberflächenkolonieen: Rings um Kolonieen der eben geschilderten Art wächst anfäng-

lich an einer Stelle der Peripherie eine Masse von derselben Farbe, nur etwas heller, und von derselben Struktur, wie die ursprüngliche Kolonie; nach 3mal 24 Stunden ändern die Tiefenkolonieen ihr Aussehen nicht, an den ausgewachsenen Oberflächenkolonieen läßt sich im Centrum die ursprüngliche runde, kleine Kolonie, umwachsen von einer aus großen, dicken, gewundenen Büscheln bestehenden Masse unterscheiden. Die gesamte Masse ist fein gekörnt, der centrale Teil der Kolonie ist dunkelbraungelb gefärbt, je näher zur Peripherie, desto heller wird die Farbe, und ganz an der Peripherie ist die Masse völlig farblos, an der Oberfläche der Kolonieen sieht man dunklere, nach verschiedenen Richtungen hinziehende Runzeln. Verflüssigung ist noch nicht eingetreten; nach 4mal 24 Stunden haben alle in der Tiefe gelegenen Kolonieen dasselbe Aussehen wie früher, nur sind sie merkbar dunkler dunkelbraun, fast schwarz geworden, so daß bei vielen die Granulierung nicht mehr zu erkennen ist. Die Oberflächenkolonieen sind auch erheblich dunkler chokoladenbraun geworden, viele Kolonieen sind bereits im ersten Verflüssigungsstadium; bei derartigen Kolonieen sieht man noch die Locken, bei den anderen sind letztere bloß an der heller gefärbten Peripherie zu sehen, während der ganze centrale Teil dunkelbraun ist, so daß hier fast gar keine Struktur zu erkennen ist, im allgemeinen aber läßt sich an allen heller gefärbten Kolonieen deutlich eine gekörnte Struktur und Locken unterscheiden. Nach 5mal 24 Stunden besteht dasselbe Bild, nur ist die Verflüssigung weiter fortgeschritten, an einzelnen Kolonieen hat sich ein hellgrauer Hof aus zarten, verfilzten Fäden entwickelt.

Gelatinestich nach 48 Stunden: Bei B. E l l e n b a c h. an der Einstichstelle eine kleine, trichterförmige Vertiefung, der Stich selbst in seiner ganzen Ausdehnung homogen und deutlich hervortretend, bei B. m e g a t h e r i u m ist die Vertiefung an der Einstichstelle kaum zu merken, der Stich erscheint als dünner, durchsichtiger Streifen, welcher an der oberen Hälfte kenntlicher ist, weiter abwärts aber allmählich sich verliert; nach 3 Tagen wurde bei B. E l l e n b a c h. der Verflüssigungstrichter sichtbar größer, es trat eine geringe Verflüssigung auch längs des ganzen Stichkanals ein und dabei ganz gleichmäßig in allen Teilen desselben, bei B. m e g a t h e r i u m hat sich an der Einstichstelle die Vertiefung ein wenig vergrößert und es hat sich bereits eine seichte Verflüssigungsschale gebildet, während der Stichkanal selbst ohne Veränderungen geblieben ist. Am 4. Tage hat sich bei B. E l l e n b a c h. die Verflüssigung kenntlich dem ganzen Stichkanal entlang trichterförmig ausgebreitet, bei B. m e g a t h e r i u m dagegen dasselbe Bild, wie vordem, nur hat sich die Schale etwas vergrößert; nach 5 Tagen dasselbe Bild, Verflüssigung ist weiter vorgeschritten. Nach 6 Tagen dasselbe, nur ist bei B. E l l e n b a c h. die Verflüssigung an der Oberfläche der Gelatine fast bis an die Wände des Röhrchens angelangt und der Verflüssigungstrichter ist noch größer geworden, bei B. m e g a t h e r i u m geht die Verflüssigung sehr langsam vor sich, die Schale hat sich etwas vergrößert, aber der Stichkanal ist nicht verändert. Nach 7 Tagen ist bei B. E l l e n b a c h. die Ver-

flüssigung bis an die Wände angelangt, bei B. megatherium ist nur die Schale größer geworden. Nach 9 Tagen verbreitet sich die Verflüssigung bei B. Ellenbach. nach abwärts in Flächen, der Trichter hat auch an Umfang zugenommen, an der Oberfläche der verflüssigten Gelatine hat sich ein feines, glattes Häutchen gebildet, bei B. megatherium ist die Schale breiter und tiefer geworden, doch ist die Verflüssigung noch nicht bis an die Wände des Röhrchens vorgeschritten und der Stichkanal selbst ist, wie vordem, nicht verändert; die verflüssigte Gelatine reagiert bei beiden Mikrobien schwach alkalisch.

Stichkultur in Gelatine, zu welcher 4 Proz. Milchzucker zugesetzt ist, hat eigentlich sowohl bei B. Ellenbach. als auch bei B. megatherium denselben Charakter, wie in gewöhnlicher Gelatine, die Differenz besteht bloß in folgendem: Die ganze Oberfläche der Gelatine ist bei B. Ellenbach. nach 4 Tagen, d. h. schneller als in gewöhnlicher Gelatine, verflüssigt, in jeder anderen Hinsicht dasselbe Verhalten, wie in gewöhnlicher Gelatine, bei B. megatherium geht die Verflüssigung in Zuckergelatine ebenfalls in etwas schnellerem Tempo als in gewöhnlicher vor sich und verbreitet sich mehr in die Tiefe dem Stichkanal entlang, so daß nach 9 Tagen die Verflüssigung die Hälfte des Stichkanals eingenommen hat. Der verflüssigte Teil erinnert ein wenig an einen Trichter, wie bei B. Ellenbach., nur von geringeren Dimensionen, unterhalb des Trichters bleibt der Stichkanal ohne Veränderung; die Reaktion der verflüssigten Gelatine ist hier bereits eine verschiedene — bei B. Ellenbach. ist dieselbe schwach alkalisch, bei B. megatherium dagegen schwach sauer.

Bouillonkulturen nach 48 Stunden, bei 30° C in Pasteur'schen Kolben bei B. Ellenbachensis Bouillon gleichmäßig getrübt, auf dem Boden ein geringes Sediment, bei B. megatherium Bouillon sehr schwach getrübt, mit geringem Bodensatz. Nach 3 Tagen bei B. Ellenbach. Bouillon stark getrübt, auf der Oberfläche, an den Wänden Partikel eines im Entstehen begriffenen Häutchens, auf dem Boden ein beträchtliches Sediment, welches beim Schütteln sich als außerordentlich zähschleimig erweist, indem dasselbe in Gestalt einer Haarlocke aufwirbelt und erst nach starkem Schütteln sich in der Bouillon verteilt, bei B. megatherium dagegen ein flockiges Sediment, welches beim Schütteln leicht aufwirbelt und sich leicht in der Bouillon verteilt. Nach 10 Tagen bei B. Ellenbach. Bouillon schwach trübe, an der Oberfläche durchweg feines, glattes Häutchen. Sediment von demselben Charakter, wie vordem, die ganze Bouillon ist deutlich zähschleimig geworden, bei B. megatherium Bouillon vollständig klar, am Boden das nämlige flockige Sediment, wie zuvor, kein Häutchen; Reaktion der Bouillon bei beiden Mikroben schwach alkalisch. Ein vollkommen gleiches Bild zeigen die Bouillonkulturen bei Zusatz von 0,3 Proz. KNO_3. Das mikroskopische Bild eines hängenden Bouillontropfens nach 24 Stunden bei 30° C ist sowohl bei B. Ellenbach. als auch bei B. megatherium ein und dasselbe, dicke Stäbchen aus 2 und nicht mehr als 8 Gliedern, keine langen Fäden. Nur in einem

unterscheiden sie sich voneinander — die meisten Megatherium-Stäbchen befinden sich in Bewegung, während sämtliche Ellenbachensis-Stäbchen immobil waren; nach 2 Tagen zeigten fast alle Megatherium-Stäbchen Sporenbildung, die wenigen Stäbchen ohne Sporenbildung, nicht mehr als aus 2—3 Gliedern bestehend, befinden sich in Bewegung. An vielen Ellenbachensis-Stäbchen sieht man auch den Anfang einer Sporenbildung, aber solche Stäbchen giebt es hier viel weniger als bei B. megatherium, die Stäbchen ohne Sporenbildung sind, wie zuvor, immobil und bestehen aus 2—8 Gliedern. Die Sporen sind bei beiden Mikroben von vollkommen gleichem Aussehen und annähernd gleicher Größe. An allen weiteren Tagen sieht man bei B. megatherium nur Sporen, während bei B. Ellenbachensis das Bild sich nicht verändert, so viele Stäbchen am 2. Tage Sporenbildung zeigten, soviele blieben auch in der Folge; am 5. Tage gehen viele Stäbchen ohne Sporenbildung in Involutionsformen über.

Strichkultur auf Kartoffelscheiben (in Röhrchen) nach 24 Stunden bei 30° C: B. megatherium erzeugt sehr reichlichen, trockenen, opaken, hellgelben Belag, B. Ellenbach. schwach kenntlichen, schmalen Streifen von der gleichen Farbe, wie die Kartoffelscheibe, mit schwach gelblichem Ton. Nach 48 Stunden Megatherium-Kultur von dem nämlichen Charakter, nur fast über die ganze Kartoffelscheibe ausgebreitet, letztere ist ein wenig dunkler geworden, der Ellenbachensis-Rasen hat die Farbe der Kartoffelscheibe, ist opak, merkbar größer, aber nicht so reichlich, wie die Megatherium-Kultur, die Kartoffelscheibe wird nicht dunkler; in den folgenden Tagen bleibt das Bild unverändert, nur breitet sich der Ellenbachensis-Strich fast über die ganze Scheibe aus. Auf Milch nach 48 Stunden bei 30° C zeigen sowohl B. megatherium als auch B. Ellenbach. dasselbe Bild: Die Milch hat sich nicht verändert, bloß ganz an der Oberfläche ist eine dünne, halbdurchsichtige Molkenschicht bemerkbar; nach 3 Tagen zeigt B. megatherium fast gar keine weiteren Veränderungen, aber bei B. Ellenbach. hat die peptonisierte Milchschicht beinahe ein Drittel des Röhrchens eingenommen und darunter befindet sich eine halbflüssige Masse von ausgefallenem Kasein. Am 4. Tage hat bei B. Ellenbach. die Molkenschicht ein wenig zugenommen, aber bei B. megatherium ist diese Schicht beträchtlich größer geworden, als zuvor, wenn dieselbe auch immer noch geringer ist, als bei B. Ellenbach. Am 5. Tage ist beim Ellenbach. die halbdurchsichtige Schicht fast bis an die Hälfte des Röhrchens anbelangt, beim Megatherium fast ebensoweit, die übrige Milchmasse hat bei beiden Mikroben dasselbe Aussehen einer halbflüssigen, schleimigen Masse. Reaktion der Milch bei B. Ellenbach. neutral oder sehr schwach alkalisch mit leichtem Käsegeruche, bei B. megatherium dagegen ist die Reaktion der Milch schwach sauer und der Käsegeruch fehlt.

Wachstum in anaërober Bouillon mit und ohne Zusatz von Kalinitrat: Die Kulturen wurden in anaëroben Röhrchen, aus denen erst die Luft ausgepumpt, dann einige Male Wasserstoff durch-

gelassen und schließlich die Röhrchen zugeschmolzen wurden, gezüchtet. B. megatherium zeigte in solcher Bouillon sowohl mit als auch ohne Nitratzusatz gar kein Wachstum, aber es genügte, Luft in das anaërobe Röhrchen eindringen zu lassen, damit der Mikrob sich zu entwickeln begann. Als weniger strenger Aërobe erscheint der B. Ellenbach.: In Bouillon ohne Nitratzusatz zeigt sich schon binnen 24 Stunden bei 30° C schwache Trübung, und in Bouillon mit Nitratzusatz (0,3 Proz.) ist diese Trübung stark, und es entsteht ein Bodensatz; nach 48 Stunden ist in gewöhnlicher Bouillon die Trübung ebenso schwach, wie binnen 24 Stunden, in Nitratbouillon ist die Trübung noch stärker und auf dem Boden ein reichliches Sediment. Am 3. Tage beginnt die eine wie die andere Bouillon sich zu klären, und binnen einigen Tagen werden beide ganz klar; in gewöhnlicher Bouillon bildet sich auf dem Boden des Röhrchens ein geringes Sediment, welches beim Schütteln in Gestalt eines zähschleimigen, schwer in der Bouillon verteilbaren Büschels aufwirbelt; in Nitratbouillon ist das Sediment bedeutend stärker, doch von ganz derselben Beschaffenheit.

Was Form und Größe der Stäbchen anbelangt, so sind beide vergleichend untersuchten Mikroben einander sehr ähnlich. Länge 3—6 μ, Breite ungefähr 1,5 μ, mitunter größer oder kleiner, aber bisweilen unterscheiden sie sich voneinander auf einzelnen Nährböden. In letzterem Fall ist die Differenz die, daß die Megatheriumstäbchen massiver, mit sehr deutlich abgerundeten Enden erscheinen, außerdem bildet B. Ellenbach. niemals solche kurze, fast viereckige Glieder mit abgerundeten Enden, wie es bisweilen bei B. megatherium der Fall ist. Endlich, was besonders auffällt, ist das nicht homogene Protoplasma bei Megatherium sehr kenntlich; bei Vegetation auf gewissen Nährsubstraten sind seine Stäbchen bisweilen mit scharf contourierten, runden, sehr verschieden großen Körnchen und Vakuolen ausgefüllt, bei Ellenbachensis wird ebenfalls mitunter nicht homogenes Protoplasma wahrgenommen, aber lange nicht so scharf ausgeprägt und so deutlich, wie bei Megatherium. Was die Eigenbewegung anbelangt, so sind beide Mikroben in dem Charakter der Bewegung einander sehr ähnlich.

(Schluß folgt.)

Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Henneberg, Essigfliegen (Drosophila fenestrarum Fall. und funebris Fabr.). (Die deutsche Essigindustrie. Bd. VI. No. 41—42. Mit 3 Abbildungen.)

Aus der angeführten Litteratur über die Essigfliegen sei hier erwähnt, daß Aristoteles in seiner Historia der Tiere von kleinen

Fliegen berichtet, die aus den Würmern des Essigs entstehen. Eine genauere Beschreibung finden wir bei dem durch die Erfindung des Weingeistthermometers bekannten Physiker und Zoologen Réaumur (1741) und bei Menzel (Bremisches Magazin. 1765). Letzterer verwechselt jedoch die Larven dieser Fliegen mit den Essigälchen. Er meint, daß der aus den Gefäßen aufsteigende Essigdunst durch die Fühler aufgenommen wird und zur Ernährung dieser Tiere dient. Sonst finden wir nur wenig über die Biologie der Essigfliegen.

Verf. beschreibt zunächst die kleine häufige Art (Drosophila fenestrarum Fall). Das Hauptcharakteristikum dieser $2^1/_2$—3 mm großen Fliege sind die zinnoberroten Augen. Hier soll nur hervorgehoben sein, daß die Eier, über die in der Litteratur nichts angegeben zu sein scheint, sich durch 2 lange Haftfäden auszeichnen, die in der Nähe des vorderen Endes sich befinden. Die Eier sind 0,5 mm lang und 0,2 mm breit, von weißer Farbe und von einer netzartig gezeichneten Haut umgeben. Die größere Art ($3^1/_2$—4 mm) (Drosophila funebris Fabr.) hat dunkelweinrote Augen. Die Fliege ist dunkler gefärbt. Die weißen Eier sind 0,6 mm lang und haben 4 fädige schmale Haftorgane. Diese Art ist seltener. Die kleine Essigfliegenart ist äußerst häufig in allen Brennereien, Saftpressereien, Essigfabriken sowie in den gärungstechnischen Laboratorien, in welchen Essig, Wein und andere alkoholhaltige Flüssigkeiten benutzt werden. In den Weinessigfabriken sind öfters die inneren Wände der Bottiche ganz weiß von den Eiern und Maden. In der freien Natur finden wir sie an blutenden Bäumen und an abgefallenem Obst.

Interessant ist, daß die Tiere außer mit Trebern, Maische etc. sehr gut mit Preßhefe und Essigbakterien ernährt werden können. Wie die Versuche nämlich zeigen, nehmen die Larven und Fliegen diese Pilze mit Vorliebe auf. Essig und mit Essig versetztes Bier genügt allein nicht zur Ernährung. Sind aber Bakterien oder Hefen (vor allem Kahmhefen) in diesen Flüssigkeiten vorhanden, so entwickeln sich die Tiere in üppigster Weise. Man kann sie auch ohne jede Spur von Essig oder Alkohol züchten, doch darf in den Nahrungsstoffen keine Fäulnis eintreten.

Die auffallende Vorliebe für Essig erklärt sich vielleicht dadurch, daß die Tiere in essigsauren Stoffen die ihnen zur Nahrung dienenden Pilzvegetationen finden.

Unter verschiedenen in Flaschen aufgestellten Flüssigkeiten suchten die Tiere am meisten Essig, Wein und Bier auf. Besonders bevorzugt waren Flüssigkeiten, auf denen sich eine Fruchtätherhefenhaut (Anomalus) befand. Ester, Essigäther etc. lieben sie also ebenfalls.

Fliegen, welche 24 Stunden ohne Nahrung gewesen waren, nahmen 13- und 10-proz. Essig nicht auf, dagegen 6- und 3-proz. In Maische mit 3-proz. Säure entwickelten sich die Larven nicht mehr; sie können also nur in schwachsauren Stoffen leben.

Die Kopulationszeit dauert ca. 23 Minuten. Interessant sind die Liebesspiele; das Männchen führt eine Art Tanz auf. Die

Tiere legen Eier, die manchmal sogleich auskommen. In einem Fall wurden die Eier (87) innerhalb 15 Tagen abgelegt. Die Nachkommenschaft einer Fliege betrug nach 16 Tagen 258 (Durchschnitt von 3 Zählungen). Die Tiere sterben, soweit beobachtet wurde, nach dem Eiablegen nicht ab.

Parthenogenesis findet nicht statt.

Der Larvenzustand dauert je nach der Ernährung und Temperatur 5—10 Tage, der Puppenzustand 3—11. Die Entwickelungszeit dauert also 8—21 Tage.

Die Fliegen wurden $2^3/_4$—$3^1/_2$ Monate alt. Bei der Zählung einer Zucht kamen auf 100 weibliche Tiere 77 männliche. In einem Falle wurden die Tiere an einer Kartoffelmaische, also in der Freiheit eingefangen und gezählt. Die Zählung ergab auf 100 Weibchen 150 Männchen. Vielleicht ist das Geschlechtsverhältnis von der Ernährung abhängig. Schaden verursachen die Essigfliegen in den Betrieben nicht. Die Essigälchen werden durch den Anstellessig allgemein verbreitet. Die Versuche ergeben, daß die Essigfliegen höchstens innerhalb ein und derselben Fabrik die Aelchen verschleppen können. In großer Menge werden aber Bakterien und Hefen durch sie übertragen, wie die Versuche zeigen. Im Laboratorium krochen die Fliegen öfters durch das offene U-förmig gebogene Rohr des Pasteur-Kolbens und verursachten eine Infektion der Reinkulturen.

Zum Vertilgen der Essigfliegen schlägt Verf. das Aufstellen von enghalsigen Fangflaschen (mit saurem Bier etc. halb angefüllt) und das Aufhängen von Leimtüten und Leimfäden vor. In einem Fall hatte das Abkratzen der Eier und Larven in den Weinessigbottichen guten Erfolg. Das Vermeiden von Brutplätzen, also Reinlichkeit ist jedenfalls das beste Mittel.

Die große Art verhält sich ähnlich, doch liebt sie auch faulige Stoffe. Sie findet sich nur zeitweise ein. Die Tiere sind viel weniger lebhaft. Henneberg (Berlin).

Henneberg, W., Ueber das Vorkommen von Glykogen bei Brennerei-, bei Preßhefen und obergärigen Brauereihefen. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1902. No. 35—39.)

Verf. untersuchte in der Hefefabrik, in der Versuchsbrennerei und Brauerei des Institutes den Glykogengehalt der Hefe während der einzelnen Entwickelungsstadien und während der Gärung in den verschiedenen Maischen und Würzen. Außerdem wurde im Laboratorium eine größere Reihe von Versuchen angestellt, um die Bedingungen der Glykogenbildung genauer festzustellen.

Das Glykogen wurde durch die Jodreaktion nachgewiesen. Es ist wichtig, daß nur ganz verdünnte Jodlösungen (weniger als 0,1 Proz. J) zur Anwendung kommen, damit zunächst das Protoplasma ungefärbt bleibt und nur das Glykogen sich färbt. Auf diese Weise kann man den Beginn der Glykogenbildung, die Menge und die Verteilung in der Zelle viel genauer beobachten. Wenn man etwas größere Hefemengen zur Verfügung hat, läßt sich durch Verreiben der Hefe mit etwas Wasser und Hinzufügen von einigen

Tropfen Jodlösung mit bloßem Auge sehr gut der Glykogengehalt feststellen. Die Hefe nimmt, wenn solches vorhanden ist, eine schöne, braun-violette Färbung (etwa wie eine wässerige Kakaopulveraufschwemmung) an. Nach einiger Zeit verschwindet diese Farbe, erscheint aber auf neuen Jodzusatz sogleich wieder.

Unter gleichen Bedingungen geben einzelne Zellen und einzelne Sproßverbände keine, andere sehr deutliche Glykogenreaktion. Es scheint eine erbliche Eigenschaft mancher Zellen zu sein, Glykogen aufzuspeichern. Bei dem Beginn der Glykogenansammlung treten 1—12 rundliche oder anders geformte, scharf abgesetzte Tröpfchen auf, die sich vergrößern und schließlich das ganze Plasma oder nur einen mehr oder weniger scharf abgegrenzten Teil desselben durchsetzen. Ohne die Jodreaktion anzuwenden, konnte man nur in einem Versuche an der stärker lichtbrechenden Beschaffenheit des Plasmas die glykogenhaltigen Zellen erkennen.

An abgepreßter Hefe wurde folgendes festgestellt: Die einzelnen Heferassen unterscheiden sich durch ihren Glykogengehalt (Rasse 2 der Berliner Sammlung hatte sehr viel, Rasse 7 und 9 meist sehr wenig). Verschiedene Kulturen derselben Rasse können sich in dieser Beziehung ebenfalls etwas unterscheiden. Für die Praxis der Brennerei und Preßhefefabrikätion ist der Glykogengehalt gleichgiltig, da die Haltbarkeit und Triebkraft der Hefe nicht damit im Zusammenhang steht. Lagert die Hefe in Büchsen bei 6—8° C, so ist in $^1/_2$—1 Monat das Glykogen aus den Zellen verschwunden. Am schnellsten, oft schon in 24 Stunden, wird es bei 37° C veratmet. Wendet man eine Temperatur von 50° C an, so sterben die Zellen eher ab, und das Glykogen bleibt, wie es bei toten Zellen immer der Fall ist, längere Zeit erhalten.

Bei Luftzutritt verliert fein verteilte Hefe bei 22° C oft schon in 3 Stunden das Glykogen. Bekanntlich tritt unter diesen Bedingungen zugleich eine starke Erhitzung ein. Unter Wasser lagernde Hefe behält ihre Glykogenmenge länger als an der Luft liegende. Wird durch das Wasser ein Luftstrom geleitet und zugleich etwas erwärmt, so verschwindet bald das Glykogen (in ca. 24 Std.). Es wird in Alkohol und Kohlensäure verwandelt.

Gärende Hefe hat nur so lange Glykogen aufzuweisen, wie Zucker in reichlicher Menge vorhanden ist. Sobald neue Mengen Zucker der vergorenen Flüssigkeit zugesetzt werden, bilden sich in den meisten Fällen neue Glykogenmengen. Dies geht aber nur eine gewisse Zeit, die bei den einzelnen Rassen verschieden lang ist. Wahrscheinlich wird die Hefezelle durch den Alkohol allmählich so geschwächt, daß sie kein Glykogen mehr bilden kann. Alles, was die Gärung beschleunigt oder verlangsamt, bestimmt auch die Schnelligkeit der Glykogenabnahme. Bei warmer Temperatur verschwindet es daher viel schneller. Die bei höherer Temperatur gärenden Brennereihefen verlieren es in kürzerer Zeit als die bei kalter Temperatur langsam gärenden untergärigen Brauereihefen. Lüftung beschleunigt in dünner Würze die Glykogenabnahme. In konzentrierter Würze nimmt es

zuerst langsamer ab als in ungelüfteter. Konzentrierte, d. h. zuckerreiche Würzen haben viel länger glykogenhaltige Hefezellen aufzuweisen als dünne Würzen.

Wenn gärungshemmende Bakterien anwesend sind, hält sich das Glykogen länger, da der Zuckergehalt der Würze etc. ein größerer bleibt. Reinkulturen von Essigbakterien (Bacterium industrium) und von Hefe (Rasse 2) wurden in denselben Maischen und Würzen gezüchtet. Das Ergebnis war, daß die Hefe unter diesen Bedingungen längere Zeit mehr Glykogen enthielt als in den Parallelversuchen ohne Bakterien.

Die Zeit des Auftretens von Glykogen in Gärungen bei kalter Temperatur ist verschieden von der bei warmen Gärungen. Im ersteren Falle ist nach 24 Stunden sehr wenig, im letzteren bereits sehr viel vorhanden. Die Menge nimmt bei kalter Temperatur langsamer zu und erreicht am ca. 7.—8. Tage das Maximum, während bei warmer dies schon am 2. Tage erreicht wird. In den Brennereimaischen, die bei 27—31 ° C vergären, ist bereits am 2. Tage sehr viel Glykogen vorhanden. Bei untergärigen Brauereigärungen wendet man 4—7 ° C an, das Glykogen ist in diesem Falle erst nach einigen Tagen (7—8) in großer Menge nachzuweisen.

Bei reichlichem Luftzutritt erscheint das Glykogen meist eher als in ungelüfteter Würze.

Interessant ist, daß es in dünnen Würzen früher nachzuweisen ist als in konzentrierten. Während es z. B. in 7 ° Bllg. Würze schon nach $1^3/_4$ Stunden auftrat, erschien es in 26 ° Bllg. erst nach 24 Stunden. Im ersteren Falle liegt das Maximum nach 24 Stunden, im letzteren nach 5 Tagen.

In reinen Zuckerlösungen findet eine Glykogenaufspeicherung früher statt, als wenn Pepton zu den Zuckerlösungen hinzugefügt war. In letzterem Falle verschwindet es früher.

Anwesenheit von Milchsäure verlangsamt die Glykogenbildung. Bei einem Gehalte über 1 Proz. Säure wird bedeutend weniger aufgespeichert als in Maischen ohne Säure. Aus diesem Grunde hatte stark gesäuerte Getreidemaische nur wenig Glykogen aufzuweisen.

Die Menge Glykogen, welche in wässerigen Zuckerlösungen aufgespeichert wird, ist je nach der Zuckermenge verschieden. In 1-proz. Lösung ist sie gering, in 10—20-proz. sehr groß. Man kann am besten Hefe glykogenreich machen, wenn man sie mit 20-proz. Rohrzucker oder Dextroselösung übergießt und 24 Stunden stehen läßt.

Malzzucker, Rohrzucker und Traubenzucker erweisen sich in Bezug auf Glykogenbildung als gleichwertig. In Stärke- und Dextrinlösungen, auch in solchen mit Peptonzusatz, ebenso in Pepton oder Asparaginlösungen ohne Zuckerzusatz wurde keine Glykogenbildung beobachtet.

In Kartoffelmaische hatten die Hefezellen niemals besonders viel Glykogen aufzuweisen; in Getreidemaischen, sowie in Maismaischen und Malzwürzen dagegen meist sehr viel.

Die Hefezellen, welche während des Besitzes an Glykogen absterben, behalten dies viel länger als die lebenden. Dieser Stoff vermag nämlich nur sehr allmählich durch die Zellhaut zu dringen. Wenn Chloroform oder Alkohol zugesetzt wurde, so blieb das Glykogen in den toten Zellen sehr lange erhalten. Einen gleichen Einfluß hatte ein Zusatz von Zucker. In Getreide- und Kartoffelmaische verschwindet dieser Stoff aus den toten Hefezellen in kürzerer Zeit. Wie einige Versuche ergaben, scheint die Diastase, die sich in der Maische in noch wirksamem Zustande befindet, auf dàs Glykogen in den toten Zellen eine auflösende Wirkung zu haben.

Von den Untersuchungen an einigen anderen Hefearten mag hier erwähnt sein, daß Kahmhefen ebenfalls Glykogen aufspeichern können. Eine Milchzuckerhefe (No. 394 der Berliner Sammlung) hatte weder in Würze, noch in Milchzuckerlösung Glykogen, Die Hefe Logos dagegen zeichnete sich durch außerordentlichen Reichtum an diesem Stoffe aus. Obwohl diese Art Dextrin vergärt, bildet sie in dextrinhaltigen Lösungen kein Glykogen. Die Hefe verhielt sich also ebenso wie eine Brennereihefe.

Nach den obigen Angaben ist also Glykogen ein Zeichen von Anwesenheit von reichlichem Zucker. Für die Hefezelle scheint es in den untersuchten Fällen von keinem besonderen Nutzen zu sein. Ein eigentlicher Reservestoff ist es wohl kaum, da es zu schnell aus der Zelle verschwindet. Henneberg (Berlin).

Henneberg und **Wilke**, Ueber Guajakreaktion bei Essigbakterien. (Die deutsche Essigindustrie. Bd. VI. No. 26.)

Verff. berichten über die Ergebnisse ihrer bisherigen Untersuchungen. Mit Guajak und Wasserstoffsuperoxyd nehmen Essigbakterien häufig eine tiefblaue Färbung an. Der Gedanke, daß hier ein oxydierendes Enzym vorliegt, liegt nahe. Die Thatsache aber, daß auch nach dem Kochen die Bakterienhäute die Reaktion geben, spricht gegen diese Annahme. Die Reaktion fällt je nach dem Alter und der Art der Essigbakterien verschieden aus. Am deutlichsten und häufigsten ist bei B. xylinum Blaufärbung festzustellen. Die ganze Schleimmasse färbt sich ebenso wie ein Malzauszug tief blau. Ebenso giebt B. aceti Hansen und Termobacterium aceti Zeidler sehr deutlich Blaufärbung. Bei B. oxydans und industrium fand sich dieselbe fast niemals. Die übrigen untersuchten Arten (die genauer bekannten Essigbakterienarten) gaben nur manchmal die Reaktion.

Henneberg (Berlin).

Referate.

Molisch, Hans, Ueber das Leuchten des Fleisches. („Deutsche Arbeit". Jahrg. I. Heft 12. Naturforscherheft. p. 960—964. (München und Prag) G. D. W. Callwey) [1902.]

Die erste Nachricht über leuchtendes Fleisch toter Schlachttiere rührt von dem Anatomen zu Padua, H. Fabricius al Aquapen-

dente, her. Er beobachtete zur Osterzeit 1592 leuchtendes Lammfleisch und erwähnt, daß man die Finger und jeden anderen Körper leuchtend machen konnte, indem sich eine klebrige Feuchtigkeit vom Fleische ausschied. 1641 ereignete sich zu Montpellier ein ähnlicher Vorfall. Verf. verfolgte die Sache seit Oktober 1901 weiter. Von 76 Rindfleischproben (Oktober 1901 bis Januar 1902) leuchteten 48 Proz. Das Bestreuen mit Kochsalz fördert das Aufkommen der Leuchtbakterien in hohem Grade. Später gab Verf. das Fleisch direkt in eine 3-proz. Kochsalzlösung so, daß es zum Teil aus der Flüssigkeit herausragte. Auf diese Weise leuchteten sogar 87 Proz. von Fleisch, das aus verschiedenen Läden herrührte, und zwar leuchteten von Rindfleischproben 89 Proz., von Pferdefleischproben 65 Proz. Beginnt das Fleisch zu leuchten, so weist es gewöhnlich noch keinen oder nur einen ganz schwachen üblen Geruch auf. Das Auftauchen von Licht stellt nur die erste Stufe der Fäulnis dar. Später erlischt das Leuchten ganz, da die Leuchtbakterien von anderen, nicht leuchtenden Spaltpilzen überwuchert werden. Nur ausnahmsweise leuchtete auch Fleisch, das schon in starker Fäulnis und von Mucor bedeckt war. Das weißlich erscheinende Licht verteilt sich selten gleichmäßig auf die ganze oder größere Teile der Fleischoberfläche, sondern tritt inselartig auf, so daß das Fleisch wie mit glänzenden Sternen bedeckt erscheint. Die Reinkulturen führten bei leuchtendem Rind-, Pferde-, Schweine- und Gänsefleisch stets auf den Micrococcus phosphoreus Cohn als Lichterreger. Dieser Spaltpilz gehört sicher zu den verbreitetsten Bakterien und stirbt bei $+30^{0}$ C ab. In unseren Körper eingeführt, verursacht er daher keinen Schaden. Möglicherweise stammt der Spaltpilz aus dem Meere, gegenwärtig aber muß derselbe als eine auf dem Festlande völlig eingebürgerte Bakterie bezeichnet werden. Verf. giebt zu, daß die Leuchtbakterie des Schlachtviehfleisches namentlich im Haushalte durch Berührung und Uebertragung auch auf Seefische und umgekehrt die verschiedenen Leuchtbakterien der Seefische wieder auf demselben Wege auf Fleisch gelangen und hier Leuchten hervorrufen können. Micrococcus phosphoreus gehört zu den am intensivsten leuchtenden Bakterien. Er leuchtet in jungen Strichkulturen mit bläulich-grünem Lichte so intensiv, daß man dasselbe schon am Tage im Schatten eines Zimmers oder durch den Rock gedeckt wahrnimmt. In Finsternis bei wohlausgeruhtem und an dieselbe gewöhntem Auge sieht man bei einer solchen Kultur die Zeiger einer Taschenuhr oder groben Druck. Die Konstruktion von „Bakterienlampen" bietet jetzt keine Schwierigkeiten mehr.

Matouschek (Reichenberg).

Haumann, M. L., Etude microbiologique et chimique du rouissage aérobic du lin. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XVI. p. 379.)

Fribes hat seiner Zeit einen anaëroben, Marmier einen aëroben Organismus beschrieben, welcher in sterilisiertem Flachs die sogenannte Röste hervorrufen kann. Duclaux spricht die Ansicht aus, daß diese Fähigkeit jedenfalls mehreren Organismen

zukomme. Die Untersuchungen des Verf.'s beziehen sich auf die Tauröste, welche übrigens ein geringwertigeres Produkt liefern soll, als die Wasserröste.

I. Erreger der Röste. Gewöhnliche Plattenuntersuchungen mit sauren und alkalischen Nährmedien ließen die Anwesenheit folgender Arten in geröstetem Flachs erkennen: Bact. coli, Bac. mesentericus fuscus, Bac. fluorescens liquefaciens, Bac. mycoïdes, Bac. subtilis, Bac. termo, Streptothrix Forsteri, Micrococcus roseus, Penicillium glaucum, Mucor mucedo, Cladosporium herbarum und nicht fruktifizierende Mycelien anderer Pilze.

Cladosporium herbarum überzieht alle Stengel und schwärzt sie; die häufigste Bakterienart war Bact. coli (wahrscheinlich eine coliähnliche Art! d. Ref.), welche Verf. in zwei etwas verschiedenen Stämmen züchtete.

Es wurde nun die Röstung mittels Reinkulturen versucht. Die Sterilisation der Flachsstengel erfolgte an 3 aufeinanderfolgenden Tagen bei 110 ° im trockenen Zustande in Glasröhren, welche mit einem Korkstopfen verschlossen waren, durch welche ein mit Wattestopfen versehenes Glasröhrchen ging. Die Impfung geschah durch Eingießen von Wasser, welchem eine geringe Menge einer Bouillon- oder Bierwürzekultur der einzelnen Arten zugesetzt war. Außer den erwähnten Arten wurden noch Sclerotinia Libertiana, Botrytis cinerea und Aspergillus niger angewendet. Loslösung der Fasern wurde in allen Fällen schon nach 14 Tagen erhalten. Im allgemeinen wirkten die Schimmelpilze viel intensiver als die Bakterien. Die ersteren rösten nicht nur, sondern sie greifen auch die Cellulose der Fasern an. Cladosporium herbarum thut dies glücklickerweise am wenigsten, weil sonst die Röste auf Wiesen unmöglich wäre. Die schönste Röste wurde durch Bac. fluorescens liquefaciens hervorgerufen.

Immerhin kann aber die Röste durch die verschiedensten Mikroorganismen erzeugt werden. Irgendwelche derselben müssen aber vorhanden sein, denn wie Verf. sich durch besondere Versuche überzeugte, tritt durch die Atmosphärilien allein unter Ausschluß der Mikroorganismen die Röste nicht ein.

II. Die chemische Seite des Prozesses. Verf. schließt sich bei seinen Untersuchungen an diejenigen von Mangin an. Das von letzterem angegebene Reagens Phenosafranin hat ihm für die mikroskopische Unterscheidung der Pektinstoffe von Cellulose ausgezeichnete Dienste geleistet. Durch chemische Untersuchung von geröstetem und nicht geröstetem Flachs kommt Verf. in Uebereinstimmung mit anderen Forschern zu dem Schlusse, daß die Röste im wesentlichen in einer Zerstörung der Pektinstoffe bestehe.

Unter Verwendung der Reinkulturen von Bact. coli, Bact. fluorescens liquefaciens, Cladosporium herbarum, Aspergillus niger und Penicillium glaucum wurden sodann Versuche ausgeführt über das Verhalten von Pektinpräparaten, die von Prof. Droixhe stammten.

Die genannten Pilze wurden in folgende Flüssigkeit ausgesät:

Wasser	1000,0 ccm
Pektin	10,0 g
Pepton	1,0 g
Ammonphosphat	1,0 g
Kaliumsulfat	0,5 g
Magnesiumsulfat	0,2 g

Die Flüssigkeit trübte sich und das Verschwinden des Pektins konnte auf polarimetrischem Wege nachgewiesen werden.

Weitere Versuche sind mit Calciumpectat angestellt worden. Die obige Lösung, die im vorliegenden Falle 1,2 Proz. Pektin enthielt, wurde für sich bei 110° sterilisiert und nachher durch Zufügung von sterilisierter Calciumacetatlösung gelatiniert. Geimpft wurde diesmal mit Cladosporium herbarum, Aspergillus niger, Penicillium glaucum, Bact. coli, Bac. fluorescens liquefaciens, Bac. subtilis und Bac. mesentericus. Alle diese Organismen haben die Gallerte verflüssigt, unter den Schimmelpilzen am schnellsten Aspergillus und Penicillium, unter den Bakterien am schnellsten Bact. fluorescens liquefaciens. Bei letzterer Art war während der Verflüssigung eine schwache Gasentwickelung zu bemerken.

Wahrscheinlich hat sich bei der Verflüssigung sauer reagierende, in Wasser lösliche Metapektinsäure gebildet, Verf. hat aber diesen Punkt nicht näher verfolgt. Burri (Zürich).

Jacobitz, Ueber stickstoffsammelnde Bakterien und ihre Bedeutung für die Landwirtschaft. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 36.)

Die durch Hellriegel und Willfarth nachgewiesene Fähigkeit der Leguminosen, den Luftstickstoff zu assimilieren, ist an die Gegenwart gewisser in den Wurzelknöllchen sich ansiedelnden Bodenkeime gebunden. Verf. bestätigt nach Versuchen des hygienischen Instituts Halle die Angaben Nobbe's und Hiltner's, daß die sich bei den verschiedenen Schmetterlingsblütern vorfindenden verschiedenen Arten alle zu einem Stamme gehören. Als dessen Vertreter wird Beijerinck's Bacillus radicicola nach Gestalt, Wachstum, Lebensäußerungen eingehend beschrieben. — Die andere Gruppe der Bodenkeime, die auch ohne das Zusammenleben mit höheren Pflanzen, selbst in künstlichen Nährböden, reinen Stickstoff anzureichern im stande sind, wird vermehrt durch einen auf der Parzelle des landwirtschaftlichen Instituts Halle rein gezüchteten Spaltpilz. Außerdem sind davon noch Clostridium Pasteurianum (Winogradsky) und Bacillus Ellenbachiensis (Caron) bekannt, über deren Eigenart und Wirkung noch gestritten wird. Der letztere vermag nach vom Verf. mitgeteilten Versuchen des hygienischen Instituts Halle allerdings in künstlichen Nährböden Stickstoff zu binden, aber doch in so geringem Grade, daß seine Wirkung bei günstigen Bodenversuchen nicht mit in Rechnung gestellt werden darf. Georg Schmidt (Breslau).

Hartig, Der echte Hausschwamm und andere das Bauholz zerstörende Pilze. 2. Aufl., bearbeitet und herausgegeben von C. Freiherr von Tubeuf. Mit 33 Abbildungen im Text. Berlin (Julius Springer) 1902.

Seit der ersten monographischen Bearbeitung des echten Hausschwammes durch R. Hartig (1883) ist die Litteratur über diesen Pilz mächtig angewachsen.

Die vorliegende von v. Tubeuf ausgeführte Neubearbeitung des Hartig'schen Werkes hilft daher einem dringenden Bedürfnis ab. Der Charakter der ersten Bearbeitung — Einteilung und Darstellung — ist beibehalten; dem vom Verf. hinzugefügten Teile über andere Zersetzungserscheinungen des Bauholzes sind die Hartig'schen Originaluntersuchungen zu Grunde gelegt.

Von wesentlichen Verbesserungen und Erweiterungen der neuen Auflage gegenüber der früheren seien hervorgehoben die prachtvollen, zum Teil kolorierten Abbildungen — sowohl Habitusbilder der durch den Hausschwamm hervorgerufenen Krankheitserscheinungen des Holzes als auch Wiedergaben mikroskopischer Bilder — ferner die Kapitel über Gestalt und Zusammensetzung, Lebensbedingungen, Einwirkung des Hausschwammes auf Holz, hygienisches Verhalten u. s. w., welchen vielfach neue auf dem Versuchsfeld der biologischen Abteilung des Reichsgesundheitsamtes gemachte Untersuchungen des Verf.'s eingestreut sind.

Neger (Eisenach).

Magnus, Ueber den Stachelbeermehltau. (Gartenflora. Jahrgang LI. 1902. [S.-A.] 3 p.)

Verf. erörtert die Provenienz des Stachelbeermehltaupilzes, Sphaerotheca mors uvae, und neigt zu der Ansicht, derselbe sei aus Nordamerika eingeschleppt worden, und nicht an den in Europa bisher beobachteten Fundorten (Irland und Rußland) einheimisch, wie z. B. Salmon und Hennings behaupten. Wohl sehr mit Recht tritt Verf. der Ansicht der Letzteren entgegen, nach welcher die auf Euphorbien auftretende Sphaerotheca tomentosa (Wolfsmilchmehltau) und Sph. mors uvae ein und dieselbe Art sei. An verschiedenen Orten in Deutschland wurde der Wolfsmilchmehltau häufig beobachtet, dagegen noch niemals der Stachelbeermehltau. Wohl aber ist nach Ansicht des Verf.'s zu erwarten, daß der Stachelbeermehltau aus Irland, Rußland oder Nordamerika über kurz oder lang zu uns gelangen wird.

Neger (Eisenach).

Aderhold, Rud., Ueber die Sprüh- und Dürrfleckenkrankheiten (syn. Schußlöcherkrankheiten) des Steinobstes. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. Bd. XXX. 1901. p. 771.)

Die Süß- und Sauerkirschen haben in den letzten Jahren fast überall stark unter kleinen, rundlichen oder eckigen Blattflecken gelitten, welche nach ihrem Vertrocknen größtenteils aus dem Blatt herausfielen, ein Loch an ihrer Stelle zurücklassend und den Bäumen

das Aussehen verleihend, als ob zahlreiche Schrotschüsse durch ihre Krone gejagt worden wären. Diese keineswegs neue und daher schon vielfach bekannte Erscheinung tritt nicht bloß auf Kirschen, sondern auch auf anderen Steinfrüchten auf und ist im letzten Jahrzehnt stellenweise zu einer wahren Kalamität geworden. Die Blattflecken können sehr verschiedener Ursache sein und werden entweder durch Pilze verschiedener Art oder durch nicht parasitäre Ursachen erzeugt, so daß man es hier nicht mit einer einzigen, sondern mit vielen, nur äußerlich verwandten Krankheiten zu thun hat. Es handelt sich hier im allgemeinen nur um kleinere, oft nur wenige Quadratmillimeter große oder selbst noch kleinere, bis punktförmige Blattflecken, und sehen dann stark besetzte Blätter so aus, als seien sie mit einer giftigen Flüssigkeit bespritzt worden, weshalb man die Erscheinung als Spritzflecken- oder Sprühfleckenkrankheit zusammenfassen kann. Es ist aber nun zwischen diesen Sprühflecken- und anderen Blattfleckenkrankheiten, bei welchen größere Blattstellen oder junge Blattzipfel absterben, keine scharfe Grenze zu ziehen, so daß Verf. bei seinen Ausführungen nicht sowohl die Sprühflecken, als vielmehr allgemeiner die Dürrflecken behandeln will. Wie bereits eingangs hervorgehoben, fallen die vertrockneten Blattflecken aus dem Blatt heraus und hinterlassen ein Loch, welches so aussieht, als ob es durch Schrotschüsse verursacht worden wäre, infolgedessen die Amerikaner für diese Blattfleckenkrankheit die Bezeichnung „Schußlöcher- oder Schußhöhlen- oder Schrot- oder Flintenschußkrankheit“ gebrauchten. Diese Bezeichnung trifft aber doch nicht das eigentliche Wesen der Krankheit, welches im Trockenbleiben, nicht aber in der Lochbildung liegt. Wie Verf. des näheren ausführt, ist in der Lochbildung kein spezifisches Symptom einer bestimmten Krankheit, sondern nur eine gelegentliche Begleiterscheinung aller Steinobstflecken zu sehen. Man hat daher das Wesen des Loches und der Lochbildung einerseits und das des Fleckens und der Fleckenbildung andererseits klar auseinanderzuhalten.

Verf. bespricht weiter die Blattflecken nicht parasitärer Natur, bezüglich deren Entstehung er sich dahin äußert, daß zuweilen Blattflecken wohl die Folge von Bespritzung mit den gegenwärtig gebräuchlichen Fungiciden sein können, daß dies aber nicht immer der Fall zu sein brauche, nachdem wahrscheinlich sogar selbst Bespritzungen mit Wasser, sowie Regen- oder Tautropfen unter gewissen Umständen zur Beschädigung führen können, wenn sie nämlich bei schwüler, wasserdampfgesättigter Luft sehr langsam verdunsten und die Sonne grell auf sie wirkt. Auch eine naßkalte Witterung kann hier eine Rolle spielen, wie auch andere Momente eingreifen können, die noch unbekannt sind.

Verf. behandelt sodann den Hauptteil seiner Abhandlung, nämlich die Blattflecken parasitärer Natur, und giebt bei diesem Abschnitt eine übersichtliche und eingehende Zusammenstellung aller derjenigen auf den in Rede stehenden Blattflecken gefundenen und als Urheber angesprochenen Pilze, neben den kritischen Bemerkungen über den systematischen Wert und die phytopathologische

Bedeutung und Bekämpfung der unterschiedenen Arten. Die Pilze gehören fast alle zu den sogenannten „Fungi imperfecti“, da man von ihnen noch nicht alle, nach Analogie zu vermutenden Fruchtformen kennt. Die sehr interessante Zusammenstellung kann im Auszug nicht wiedergegeben werden und müssen wir diesbezüglich auf das Original verweisen.

In der Zusammenstellung finden sich sowohl bedeutungslose als sehr schädliche Arten. Aber auch die ersteren sind nicht leicht hinzunehmen, nachdem sich schon wiederholt die Thatsache gezeigt hat, daß ein bis dato ganz harmloser Pilz Besorgniserregend auftreten kann. Verf. bespricht weiter diejenigen Formen, die schon einmal zu Epidemieen Veranlassung gegeben haben und namentlich für deutsche Verhältnisse in Betracht kommen und nennt zuerst Clasterosporium carpophilum (Lev.) Aderh., der gegenwärtig die größte Bedeutung besitzt. Dieser Pilz ist zumeist begleitet oder unterstützt durch Phyllosticta Beijerincki. Unleugbar parasitisch ist Cercospora cerasella Sacc. Clasterosporium carpophilum ist in ähnlicher Weise epidemisch wie Cylindrosporium Padi Krst. es in Amerika und Phyllosticta circumscissa Cooke es in Australien zu sein scheinen. Epidemieen durch andere Arten sind bisher mehr auf einzelnen Baumarten und Oertlichkeiten beschränkt geblieben, wie in Deutschland besonders Septoria erythrostoma Thüm. und Cercospora cerasella Sacc. auf Kirschen, Hendersonia marginalis auf Aprikosen, Phyllosticta prunicola auf Pflaumen; in Italien Didymaria prunicola Cav. und Clastosporium undylonema Pass. auf Pflaumen, Cercosporella persicae auf Pfirsich. In Nordamerika scheint die letztgenannte Art auf Pfirsich eine weitere Verbreitung zu haben und Cercospora circumscissa auf Mandel stellenweise epidemisch aufgetreten zu sein.

Eine interessante Frage ist es weiter, warum die Flecken in den Fällen, wo von Sprühflecken die Rede ist, so klein bleiben. Die nächstliegende Erklärung für diese Thatsache wäre die, daß die Mycelien der Flecken erzeugenden Pilze auch unter günstigsten Verhältnissen keine größeren Dimensionen anzunehmen vermögen, als sie durch die Fleckengröße zum Ausdruck gebracht werden. Dieser Fall scheint für manche Pilzarten vorzuliegen, doch erzeugen wieder andere Arten sicher weit größere Mycelien und läßt sich für diese Fälle das Kleinbleiben der Blattflecken entweder aus der kümmerlichen Ernährung des eingedrungenen Pilzes oder aus dem Kampf, der zwischen Blatt und Schmarotzer stattfindet, erklären. Namentlich letzterer Umstand dürfte für Form und Größe des Blattfleckens ausschlaggebend sein. Ganz allgemein scheinen die Blattfleckenpilze leichter die jüngeren Blätter infizieren zu können als vollentwickelte, und deshalb sind die Dürrfleckenkrankheiten in erster Linie Kinderkrankheiten der Steinobstblätter. Einzelne Arten der Blattfleckenpilze scheinen jedoch auch befähigt, in ältere Organe einzudringen und wird das ausschlaggebende Moment für eine solche Differenz und für das Eindringen über-

haupt wohl die Kraft des Pilzes sein. In dieser Frage faßt Verf. sein Urteil dahin zusammen, daß das junge Blatt leichter zu invadieren, aber schwer zu nehmen, das alte Blatt dagegen schwer zu invadieren, aber leichter vollkommen zu nehmen ist. Stellt man solchen Bollwerken das eine Mal langsam agierende, das andere Mal schneller fortschreitende Pilze mit besseren oder unvollkommeren Waffen gegenüber, so erklären sich aus den zahlreichen Kombinationen der einander entgegenstehenden Kräfte ungezwungen alle die verschiedenen Fleckenarten und Formen, die gefunden werden.

Was das Aeußere der Blattflecken anbetrifft, so sind eine sehr auffällige Erscheinung die roten, allmählich verlaufenden Ränder vielen Flecken. Dieselben sind jedoch fast ausschließlich vom Baum und nicht vom Erreger abhängig. Hierbei bleibt noch zu prüfen, inwieweit die Obstsorte dabei eine Rolle spielt; wahrscheinlich werden Obstsorten aller Art, welche ihr Laub im Herbst röten, diese Erscheinung durchwegs eher zeigen, als solche, die sich nicht rot verfärben. Indessen scheint auch hier das Licht eine gewisse Rolle zu spielen. Wie dem auch sei, so giebt nach der Ansicht des Verf.'s nicht die Pilzart, sondern das Blatt den Ausschlag, ob der rote Rand entsteht oder nicht. Statt roter treten nicht selten auch helle oder gelbgrüne Fleckenkronen auf, deren normal grüne Farbe sich aber bisweilen zu degenerieren scheint, nachdem das Wachstum des Dürrfleckens zum Stillstand gekommen ist. Die Farbe der toten Partie wechselt von hellbraun bis kastanienbraun und von aschgrau bis schwärzlich; zuweilen ist die Randlinie dunkler, zuweilen gleichfarbig, die Mitte bisweilen heller als die Hauptfläche des Fleckens und viele mitunter gezont. Kommt das Absterben zum Stillstand, so wird sie aber auch in solchen Fällen durch eine fortlaufende, gerundete Linie begrenzt. Im jungen Blatt verläuft diese Abrundung rascher als im älteren, entsprechend einem akuteren Verlaufe der Blattfleckenkrankheit.

Man sollte nun meinen, daß es gelingen müsse, nach dem Aussehen des Fleckens den Erreger bestimmen zu können, doch hat Verf. hier den Eindruck gewonnen, daß alle Merkmale mehr vom Wirt als vom Parasiten abhängen, und daß erst noch ein weit längeres Studium und eine weit allseitigere Betrachtung der Flecken, als sie den meisten Diagnosen zu Grunde liegt, nötig ist, ehe sich ein endgiltiges Urteil fällen läßt. Verf. empfiehlt daher einstweilen den Phytopathologen, nicht nach dem Habitus der Flecken einen Krankheitsfall zu beurteilen, sondern stets nur nach dem Pilz, und den Mykologen aber, auf das Aussehen der Flecke bei Artunterscheidungen kein so großes Gewicht zu legen, wie es bisweilen heute noch geschieht.

Stift (Wien).

Ribaga, C., Gli insetti che dannegiano il gelso. (Boll. di Entomolog. agrar. e patolog. vegetale. 1901. 61 p.)

Wirklich wirtschaftlich schädigend tritt am Maulbeerbaum nur eine Schildlaus auf, Diaspis pentagona Targ., deren Ent-

wickelungscyklus daher hier auch besonders ausführlich beschrieben und durch vorzügliche Abbildungen erläutert wird. Als Bekämpfungsmittel wird Abkehren der Zweige mit harten Pinseln oder Bürsten, Besprengen mit Tabakswasser, mit Petroleumemulsion oder Balbianischer Mischung angegeben; vorbeugend sollen anderswoher bezogene Pflanzen einer 3-stündlichen Desinfektion mittels Schwefelkohlenstoff unterzogen werden. — Gleich ausführlich werden zwei andere Schildläuse behandelt, nämlich Aspidiotus hederae (Vallot) und Lecanium persicae (Geoffr.). — Weiter wird dann noch eine ganze Reihe von Insekten besprochen und großenteils gut abgebildet, die teils ihre Entwickelung in oder am Maulbeerbaum durchmachen, so Sinoxylon sexdentatum Ol., ein Borkenkäfer, 3 Peritelus-Arten (Rüsselkäfer) und ein paar Bockkäfer, teils neben anderen Laubarten das Maulbeerlaub fressen, so z. B. die Maikäfer, ferner Anomala vitis F., die Raupen von Vanessa calbum (L.), Spilosoma lubricipedum Esp., Plusia gamma (L.) und Oecophora tinctella Hb., sowie 4 Heuschreckenarten. Ernstlichen Schaden haben aber alle diese Arten noch nie gebracht. P. Speiser (Bischofsburg).

Zehntner, L., De plantenluizen van het suikerriet op Java. XIII—XV. (Als No. 53 der „Mededeel. v. h. Proefstat. voor Suikerriet in West-Java" abgedruckt aus dem Arch. voor de Java-Suikerindustrie. 1901. Afl. 15. 22 p. Mit 2 Tafeln.)

Neben der schon früher als Ceratovacuna lanigera Zehntner beschriebenen „weißen Blattlaus" kommt auf dem Zuckerrohr noch, anscheinend häufiger im östlichen als im westlichen Java, eine „grüne Blattlaus" vor, welche als Aphis sacchari Zehntner hier ausführlich beschrieben wird. Sie wird in mäßigem Grade schädlich, indem die befallenen Blätter braun und welk werden und die ganzen Pflanzen kränkeln. Die Art hat viele natürliche Feinde, namentlich Schlupfwespen und Larven von Chrysopa, Coccinelliden und Syrphiden. Sie wird nebst ihren Feinden und 2 gleich zu erwähnenden Aphiden auf den beigegebenen Tafeln meisterhaft dargestellt. Als künstliches Bekämpfungsmittel wird Bestreichen der Blätter mit Petroleumemulsion oder Kalkwasser geraten, die Blätter sollen aber nicht nur abgeschnitten werden, da dann die Läuse abfallen und nicht mit vernichtet werden. — Noch nicht schädlich geworden sind die beiden anderen beschriebenen Arten, die am Grunde der Blätter bei jungen Pflanzen sitzende Aphis adusta Zehntner und die an den Wurzeln saugende Tetraneura lucifuga Zehntner. Auf letztere wird ganz besonders zu achten sein, weil schon jetzt hie und da von Wurzelkrankheiten des Rohrs gesprochen wird, die doch möglicherweise auf sie zurückzuführen sind. P. Speiser (Bischofsburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Thoinot, L. H. et **Masselin, E. J.**, Précis de microbie; technique et microbes pathogènes. 4. éd. 716 p. avec. fig. 16⁰. Paris 1902.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Behrend, M., Nachprüfung zweier neuer Methoden der Geißelfärbung bei Bakterien. Inaug.-Dissert. 30 p. 8⁰. Königsberg 1902.

Loewenthal, N., Ueber eine neue alkoholische Karminlösung. (Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XIX. 1902. Heft 1. p. 56—60.)

Porsild, M. P., Ueber einen neuen doppelgelenkigen Tubushalter. (Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XIX. 1902. Heft 1. p. 41—44.)

Silberschmidt, W., Ueber ein einfaches Bakterienfilter zur Filtration kleiner Flüssigkeitsmengen. (Münch. med. Wochschr. 1902. No. 35. p. 1461.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Alliot, H., Sur une nouvelle preuve de la résistance cellulaire des saccharomyces et sur une nouvelle application de cette propriété à l'industrie de la distillerie. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 1. p. 45--46.)

Bodin, E., La nutrition chez les bactéries. (Bullet. de la soc. scientif. et méd. de l'Ouest. T. XI. 1902. No. 2.)

Bokorny, Th., Die Abhängigkeit der Assimilationsthätigkeit der Hefe von verschiedenen äußeren Einflüssen. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1902. No. 189. p. 2021—2022.)

Coupin, H., Farbenfabrikanten unter den Bakterien. (Prometheus. 1902. No. 672. p. 753—755.)

Ernst, P., Ueber Bakterienstrukturen; Ergebnisse vitaler Färbung. (Verhandl. d. Ges. dtsch. Naturforscher u. Aerzte zu Hamburg. 1901. Tl. 2. Hälfte 2. p. 562—565. Leipzig (F. C. W. Vogel) 1902.

Ferguson, M. C., A preliminary study of the germination of the spores of Agaricus campestris and other basidiomycetous fungi. (U. St. Departm. of Agricult. Bur. of plant industry Bullet. No. 16.) 43 p. gr. 8⁰. Washington 1902.

Gabritschewsky, G., Ueber die Bedeutung der Calciumsalze für Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 4. p. 256—259.)

Henneberg, W., Ueber das Verhalten von Amylomyces —β in Kartoffelmaische und in anderen stärkehaltigen Flüssigkeiten. (Ztschr. f. Spiritusindustrie. 1902. No. 19—21, 24, 25, 27—29. p. 205, 217—218, 228—229, 261—262, 271, 290—291, 303—304. 313—316.)

Jeanprêtre, J., Curieuse influence du soufre sur la fermentation alcoolique. (Arch. d. scienc. phys. nat. T. XIII. 1902. p. 514—516.)

Matzuschita, T., Zur Physiologie der Sporenbildung der Bacillen, nebst Bemerkungen zum Wachstum einiger Anaëroben. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIII. 1902. Heft 3/4. p. 267—376.)

Mazé, La zymase de l'Eurotiopsis Gayoni. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 2. p. 113—116.)

Mouton, H., Recherches sur la digestion chez les amibes et sur leur diastase intracellulaire. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1902. No. 7. p. 457—509.)

Sambon, L. W., Remarks on the life-history of Filaria Bancrofti and Filaria immitis. (Lancet. Vol. II. 1902. p. 422—426.)

Takahashi, T., Note on the enzymes of the Japanese sake-yeast. (Bullet. of the Coll. of agricult. Tokyo Imper. Univers. Vol. IV. 1902. No. 5. p. 395—397.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Gross, E., Ueber den Wert der bakteriologischen Untersuchung für die hygienische Wasserbeurteilung. (Prag. med. Wchschr. 1902. No. 32, 33, 35. p. 389—391, 403—405, 429—431.)

Irons, E. E., Neutral-red in the routine examination of water. (Journ. of hygiene. Vol. II. 1902. No. 3. p. 314—319.)

Mitteilungen aus der königl. Prüfungsanstalt für Wasserversorgung und Abwässerbeseitigung zu Berlin. Hrsg. von A. Schmidtmann u. Carl Günther. 1. Heft. V, 166 p. m. Abbildgn. gr. 8°. Berlin (August Hirschwald) 1902. 4 M.

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Byk, Zur Schädlichkeit des „Präservesalzes“. (Dtsche med. Wchschr. 1902. No. 33. p. 598.)

Gundelach, Hackfleischuntersuchungen und Hackfleischvergiftungen. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1902. Heft 11. p. 343—349.)

Kionka, Zur Frage nach der Giftigkeit der Präservesalze. (Dtsche med. Wchschr. 1902. No. 33. p. 598.)

Milch, Molkerei.

Eckert, A., Untersuchung verschiedener Käsesorten auf Schweinerotlaufbakterien [Inaug.-Dissert.] 27 p. 8°. Erlangen 1902.

v. Freudenreich, E., Milchsäurefermente und Käsereifung. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1902. Heft 3. p. 91—104.)

Harrison, T. C., Die Lebensdauer der Tuberkelbacillen im Käse. (Landwirtschaftl. Jahrb. d. Schweiz. 1902. Heft 4. p. 138—140.)

Hippius, A. E., Einige Fragen über die Pasteurisation der Milch. (Djetsk. med. 1902. No. 2.) [Russisch.]

Lezé, R., Pasteurisation de la crême destinée à la fabrication du beurre. (Journ. d'agricult. prat. 1902. No. 33. p. 209—210.)

Müller, P. Th., Vergleichende Studien über die Gerinnung des Caseïns durch Lab und Lactoserum. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIV. 1902. Heft 2. p. 126—188.)

Pernot, E. F., Stagnant water germs in milk. (Oregon agricult. experim. stat., Corvallis. 1902. Bullet. No. 71. p. 179—184.)

Stenström, O., Beitrag zur Frage über das Vorkommen von Tuberkelbacillen in der Milch von reagierenden Kühen. (Ztschr. f. Tiermed. Bd. VI. 1902. Heft 4. p. 241—257.)

Bier, Brauerei.

Schönfeld, F., Die Kühlapparate, ihre Form und Aufstellung in der Brauerei in Bezug auf Infektion der Würze und schlechte Haltbarkeit der Biere. (Wchschr. f. Brauerei. 1902. No. 34. p. 477—478.)

Wein, Weinbereitung.

Martinand, V., Nouveaux procédés de vinification en rouge par le sulfitage et le levurage de la vendange. (Rev. de viticult. 1902. No. 453. p. 207—212.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Fraenkel, C., Die Reinigung städtischer Abwässer, insbesondere mit Hülfe des biologischen Verfahrens. (Techn. Gemeindebl. 1902. No. 10, 11. p. 150—154, 162—165.)

Rabinowitsch, L., Ueber desinfizierende Wandanstriche mit besonderer Berücksichtigung der Tuberkulose. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XL. 1902. Heft 3. p. 529—554.)

Stallmist-Konservierung mit Superphosphatgips, Kainit und Schwefelsäure. Versuche im Auftrage der deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft, Dünger-(Kainit-)Abteilg., ausgeführt in Zwätzen v. Pfeiffer, F. Moszeik, O. Lemmermann u. C. Wällnitz. Berichterstatter: Pfeiffer. V, 49 p. (Arb. d. dtsch. Landwirtsch.-Ges. Hrsg. vom Direktorium. 73. Hft.) gr. 8°. Berlin (Paul Parey) 1902. 2 M.

Tonzig, C., Ueber die Grenze der praktischen Wirksamkeit der Desinfektion der Räume und über zwei besondere Apparate zu ihrer Ausführung. (Hygien. Rundschau. 1902. No. 16. p. 797—807.)

Viola, D. e **Morello, G.**, Le biancherie e gli abiti studiati dal punto di vista del loro contenuto batterico e della loro attitudine come mezzi di conservazione e propagazione dei germi patogeni. (Annali d'igiene sperim. Vol. XII. 1902. fasc. 3. p. 407—420.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Behrens, J., Ein Hederichbekämpfungsversuch. (Wchbl. d. landwirtschaftl. Vereins im Großherzogtum Baden. 1902. No. 33. p. 525—526.)

Berlese, A., Un mezzo di lotta razionale contro la Cochylis ambiguella. (Bollett. d. entomol. agrar. e patol. veget. 1901. No. 7. p. 162—165.)

Calmani, E., Contro la tignola della vite (Cochylis ambiguella). (Bollett. d. entomol. agrar. e patol. veget. 1901. No. 5. p. 113—118.)

Kozai, Y., Ueber die Bekämpfung der Mäuseplage durch den Mereschkowsky'schen Mäusetyphusbacillus. (Bullet. of the Coll. of agricult. Tokyo imper. Univers. Vol. IV. 1902. No. 5. p. 299—322.)

Lommel, Bericht über eine Reise nach der Gegend von Mkamba zwecks Infizierung von Heuschreckenschwärmen mittels des Heuschreckenpilzes. (Ber. üb. Land- u. Forstwirtsch. in Deutsch-Ostafrika. Bd. I. 1902. Heft 2. p. 176—181.)

Malkoff, K., Zur Kenntnis der durch Cephalothecium roseum Corda hervorgerufenen Fruchtfäulnis. (Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. a. Kaiserl. Gesundh.-A. Bd. III. 1902. Heft 2. p. 148—150.)

Mayr, H., Ist der Schüttepilz (Lophodermium Pinastri) ein Parasit? (Forstwissensch. Centralbl. 1902. Heft 9/10. p. 473—479.)

Moritz, J., Versuche, betreffend die Wirkung von gasförmiger Blausäure auf Schildläuse, insbesondere auf die San José-Schildlaus (Aspidiotus perniciosus Comst.). (Arb. a. d. Biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. a. Kaiserl. Gesundh.-A. Bd. III. 1902. Heft 2. p. 138—147.)

Prunet, A., Le mildiou de la pomme de terre. (Rev. de viticult. 1902. No. 449, 451, 455, 458. p. 97—104, 156—162, 267—269, 354—359.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 22. November 1902. **No. 20.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark. Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg. Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.

Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Die Fortpflanzung der Hefezelle. II.

[Aus dem kgl. hygienischen Institut in Posen. Direktor: Medizinalrat Professor Dr. Wernicke.]

Von Dr. **Albert Hirschbruch,** Volontärassistent am königl. hygienischen Institut in Posen.

Mit 1 Tafel.

Der Mannigfaltigkeit der äußeren Zellform bei ein und derselben Heferasse entspricht die Vielgestaltigkeit des Kernelements. Damit soll nun aber nicht auch ausgedrückt sein, daß bestimmten allgemeinen morphologischen Eigenschaften der ganzen Zelle auch unbedingt feststehende Eigenschaften des Kerns morphologischer wie physiologischer Art angehören müssen, obwohl gewisse Wechsel-

beziehungen unleugbar vorhanden sind, weil Varietäten der Zell- wie der Kernform als der Ausdruck der verschiedenartigen Einflüsse auf die Zelle entstehen.

Schon die Betrachtung von Zellen, die verschieden alt sind, lehrt, daß die Kernteilungsfiguren, die ich bereits beschrieben habe, bei jugendlichen Kulturen zwar die Regel sind; je älter die Kultur aber wird, oder je schwieriger zufällig oder absichtlich ihre Entwickelungsbedingungen gestaltet sind, desto häufiger sieht man Abweichungen von der Norm. Bei ganz alten Kulturen und in noch viel interessanterer Weise bei künstlich geschädigten Zellen sieht man in jedem nach der geschilderten Methode angefertigten Präparat ein solches Chaos von Kernformen, daß allein die Regellosigkeit hier Gesetz zu sein scheint.

Wenn man von den normalen Bildungen nunmehr absieht und auch zunächst noch alle diejenigen Formen unberücksichtigt läßt, welche Sporen zu sein scheinen oder die verschiedenen Entwickelungsstadien dieser Sporen darstellen, so ergiebt sich die Einteilung aller übrigen Kernbilder in drei Gruppen wegen ihrer gänzlich verschiedenen Eigentümlichkeiten von selbst, obwohl mannigfache Uebergänge zwischen diesen Gruppen bestehen.

Die fünf ersten Abbildungen geben ein ungefähres Bild von dem, was ich in die erste Gruppe rechne. Der Kern ist hier in mehr als zwei Stücke gebrochen. Streng genommen, müßte es heißen, daß man mehr als zwei rotgefärbte Dinge in einer solchen Hefezelle sieht. Es ist dann zu beweisen, daß diese roten Dinge auch wirklich Kernfragmente sind. Zwei Gründe sprechen dafür. Einmal sind die einzelnen Flecken scharf umschrieben und nicht diffus verteilt, wie es bei der bloßen Auflösung einer im Kern vorhandenen säurefest färbbaren Substanz zu erwarten wäre. Solche diffuse säurefeste Färbungen kommen zwar auch vor, stellen aber das Ergebnis eines ganz andersartigen Vorgangs dar. Der zweite Grund für die Auffassung der säurefesten Flecken als Kernfragmente liegt in der Eigenschaft starker Lichtbrechung des Hefekerns. Die einzelnen Bruchstücke haben sich diese Fähigkeit bewahrt. Außer ihnen ist, was noch besonders betont werden muß, kein ungefärbter, mit starker Lichtbrechung begabter Körper mehr in der Zelle vorhanden.

Wir haben es demnach mit einer Kernfragmentation zu thun.

Die einzelnen Bruchstücke sind, wie man das auch gar nicht anders erwarten kann, räumliche Gebilde von zwar unregelmäßiger aber scharf begrenzter Form. Die Dreizahl der Fragmente ist die geringste, um die in Rede stehende Kernveränderung sicher zu erkennen. Es ist sehr unwahrscheinlich, daß der Hefekern sich im Verlauf natürlicher Teilungsvorgänge mitunter in drei Stücke teilen soll, denn noch nie sah ich beim Saccharomyces ellipsoideus eine Zelle, die gleichzeitig zwei Sprossen getrieben hätte. Das könnte aber nur der einzige Zweck einer normalen Dreiteilung des Kerns sein. Sollte auch eine solche Zelle noch einmal gefunden werden — die Möglichkeit ihrer Existenz läßt

sich nicht abstreiten — so würde es sich doch um eine so außerordentlich seltene Erscheinung handeln, daß überall dort, wo wir in einem Gesichtsfelde zahlreiche Zellen mit drei und mehr Kernen sehen, auf keinen Fall Doppelproliferation vorliegen kann. Wir sind genötigt, überall dort Kernfragmentation als Ursache anzunehmen, wo mindestens drei nicht miteinander in Verbindung stehende, stark lichtbrechende und mit Fuchsin säurefest gefärbte Körper in einer Hefezelle vorhanden sind. Sicherlich kommt es auch vor, daß der Hefekern in zwei Stücke gebrochen wird, und ich habe zahlreiche Formen gesehen, die dafür sprechen. Im strengen Sinne wissenschaftlich beweisend sind sie aber alle nicht. Selbst im schönsten Präparat finden wir Zellen genug, wo die Kerne, noch gerade eben erkennbar, lediglich Phasen natürlicher Teilungsvorgänge darstellen. Die mechanischen Schädigungen durch unsere Präparierung haben den morphologischen Wert fast unerkennbar gemacht. Einen Schritt weiter! und die Produkte normaler Teilung sind als solche nicht mehr mit Sicherheit diagnostizierbar. Eine einwandsfreie Methode zur Erkennung des Kernbruches in zwei Stücke kann ich nicht angeben. Nur auf reiche Erfahrung vertrauend, kann man dahin eine Diagnose vielleicht mit einigem autoritativem Rechte stellen; beweisen kann man sie aber bis jetzt keinesfalls.

Die Kernschollen sind von sehr verschiedener Größe. Bald ist es mit Leichtigkeit möglich, die ihrer Zahl nach eng begrenzten Stücke morphologisch genau zu prüfen, bald ist dies wegen ihrer Menge und Kleinheit unmöglich. Weniger auf die Zahl als auf die Größe der einzelnen Kernbruchstücke achtend, teile ich die Kernfragmentation noch in zwei Untergruppen: in die Kernschollenbildung die Karyorhexie, wie sie Fig. 1—3 darstellen, und in die Kernsplitterung oder Karyotrypsie (Fig. 4 und 5).

In Fig. 4 sehen wir noch einen größeren Zellkernrest und neben ihm, über den Raum der ganzen Zelle hin verbreitet, zahlreiche Kernsplitter [1]). Es kommen auch Zellbilder vor, in denen

1) Raum, Zur Morphologie und Biologie der Sproßpilze. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. X. 1891) hat von den Kernen in Aussehen, Größe und angeblich auch im Verhalten verschiedene Grana gesehen, die er trotzdem wiederholt auch für kernhaltige Gebilde ausgiebt. Er nennt sie „paraplasmatische Einschlüsse", welche zwar bei Sprossung und Sporulation vorkommen, aber nicht regelmäßig und notwendig bei diesen Vorgängen gefunden werden. Auch Moeller, Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefe (Centralbl. f. Bakter. I. Abt. Bd. XII. p. 545) hat diese Grana gesehen und weist darauf hin, daß es nur schwer gelingt „und wie es scheint, nur zufällig", die Kerne neben den Grana zu Gesicht zu bekommen. Moeller stimmt Raum darin bei, daß diese Gebilde mitunter bei Sprossung und Sporulation vorkommen.

Meines Erachtens handelt es sich in derartigen Fällen um Kernfragmente, die zunächst gar nichts mit der Sprossung zu thun haben. Sie finden sich ganz unabhängig von derselben vor. Nicht weil die Hefe sproßt, entstehen die Kernfragmente, sondern trotz ihrer Fragmentation ist die Summe der Kernsubstanz häufig noch imstande, die Fortpflanzung zu ermöglichen.

Anna Stecksén in Studier öfver Curtis' blastomycet från svulstetiologisk synpunkt. Stockholm 1900 hat nach dem Autorreferat im Centralbl. f. Bakter. I. Abt. Bd. XXIX. 1901. p. 317 eine Wanderung von stark lichtbrechenden Körnern in der Hefezelle gesehen.

— losgelöst von der Hauptmasse des Kerns — erst einige wenige kleinste, säurefest gefärbte Bröckel im Protoplasma zerstreut liegen. Manchmal liegen dieselben insgesamt noch in nächster Nähe des Kernrests. Solche Bilder lehren uns, daß ohne vorherige Kernschollenbildung der Kern gleich splittern kann, die primäre Karyotrypsie. Die Fig. 5 zeigt uns das Ergebnis desselben Vorgangs in weiter vorgeschrittenem Stadium. Der Kernrest ist als solcher nicht mehr erkennbar.

Daneben sieht man aber auch, wie stellenweise in Fig. 2, daß sich einfache Kernschollen noch weiter in feine und feinste Bröckel auflösen. Das ist dann die sekundäre Karyotrypsie. Die in Fig. 2 dargestellte Form der Kernfragmentierung würde also zu bezeichnen sein als: Karyorhexie mit beginnender sekundärer Karyotrypsie.

Beide Vorgänge, Karyorhexie und Karyotrypsie, sind nahe verwandt miteinander. Sie unterscheiden sich anscheinend nur quantitativ; beide stellen Degenerationsformen des Kerns dar, wie sie veranlaßt werden durch das Alter der Zelle, durch Verarmung des Nährbodens an Wasser wie an festen Substanzen, durch Vergiftung der Zelle infolge der Anhäufung der eigenen Stoffwechselprodukte. Die auf der beigegebenen Tafel abgebildeten Degenerationsformen des Hefekerns sind innerhalb der Zuckeragarkultur ohne weiteres Hinzuthun meinerseits mehr oder weniger frühzeitig entstanden. Einfache Kernschollenbildung und sekundäre Kernsplitterung überwiegen ihrer Häufigkeit nach bei weitem über die Erscheinungen der primären Zersplitterung. Sämtliche Degenerationsformen, auch die noch zu schildernden, lassen sich auf einfachste Art in instruktivster Weise binnen kürzester Frist (in wenigen Stunden) auch experimentell erzeugen. Es handelt sich dabei um ein sehr interessantes schädigendes Agens, dessen Wirkungsursache ich gegenwärtig studiere; ich werde in allernächster Zeit darüber berichten. Jedenfalls ist unzweifelhaft sicher, daß die Kernsplitterung und die Schollenbildung nicht etwa irgendwelche gleichwertige Modi des normalen mitotischen Teilungsvorgangs, sondern echte Degenerationsformen sind, durch die der Wert der Zelle vermindert wird. Leichte schädigende Einflüsse, die längere Zeit hindurch einwirken, führen vorzugsweise zur groben Zertrümmerung des Kerns, während die intensiver wirkenden Schädlichkeiten die Splitterbildung begünstigen.

Bei der Zerstörung des Hefekerns ist aber mit Entstehung der beschriebenen Bildungen nicht der Höchstgrad des Möglichen erreicht.

Fig. 6 zeigt uns einen Hefekern von recht unregelmäßiger Gestalt und um ihn herum noch eine Andeutung des Kernhofs. Der Kern selbst sieht wie benagt aus. Die ganze übrige Zelle ist durch Fuchsin rot und säurefest gefärbt. Die einzelnen im Protoplasma verteilten Kernpartikel sind bereits so fein, daß sie nicht mehr wahrzunehmen sind. Es handelt sich hier um den Beginn einer Kernlösung Karyolyse. Die Lösung ist in Fig. 7 noch weiter vorgeschritten. Das dokumentiert sich einmal in der intensiveren Imbibition des Zellleibs mit säurefest färbbarer Kern-

substanz und demnach in der stärkeren Tinktion der Zelle, zweitens in der gleichmäßigeren Verteilung des Farbstoffs, die keine different gefärbte oder ungefärbte Kernhofbildung zuläßt. Der Kern ist hier aber wenigstens immer noch erkennbar durch sein dunkleres und gleichmäßigeres Rot. In Fig. 8 ist die ganze Zelle scheinbar gleichmäßig von der gelösten Kernsubstanz erfüllt. Mitunter sieht man bei sehr heller Beleuchtung in Zellbildern wie Fig. 8 noch einen Rest des Kerns, weil er das Licht stärker bricht als seine Umgebung; manchmal ist auch dieser Rest nicht mehr wahrzunehmen.

Auch die Kernlösung kann ebensowohl — ganz wie die Kernsplitterung — ihren Ausgang nehmen von dem unversehrten Kern der Zelle wie von dem bereits in Trümmer gegangenen. Die beiden folgenden Bilder (Fig. 9 und 10) zeigen uns in recht charakteristischer Weise beide Arten der Kernlösung. Sie zeigen uns aber auch noch, daß selbst bei relativ hochgradiger Kernlösung noch recht gut erhaltene Kernreste in der Zelle vorhanden sein können, und daß die Möglichkeit der Fortpflanzung besteht, solange überhaupt noch ein Rest von Kernsubstanz der Zelle erhalten geblieben ist, der nicht unter eine natürlich nicht genau feststellbare Mindestgrenze herabgeht. In Fig. 9 sind Mutter- und Tochterzelle unverkennbar und es ist hier, wahrscheinlich erst bei der Anfertigung des Präparats, der interessante Fall eingetreten, daß die aus ihrer Verbindung gerissene Tochterzelle einen Streifen mütterlichen Protoplasmas mit sich fortgezogen hat. Dies ist das einzige Bild von einer scheinbar geschwänzten Hefezelle, welches ich je gesehen habe.

Es ist bei den im Zustande der Karyolyse befindlichen Kernen nicht immer erkennbar, ob die Lösung direkt aus dem Kern heraus oder auf dem Umwege über die Kernfragmentation stattgefunden hat. Da eine weitere Unterteilung noch Wert gewinnen dürfte, halte ich es für das Zweckmäßigste, bei Zellen mit Kernlösung hinzuzufügen, ob die Zellen noch deutliche Kernreste haben oder nicht, eventuell wäre der Grad der Schädigung näher zu bezeichnen. Fig. 10 würde demnach etwa registriert werden als: In Sprossung begriffene karyolytische Hefezelle mit feinst zersplitterten Kernresten.

Die Mannigfaltigkeit der Bilder lehrt uns die sonderbarsten Formen kennen. Fig. 11 stellt einen vollkommenen Typus inversus vor, soweit es sich um die Färbung handelt. In der rot gefärbten Zelle befindet sich ein ungefärbter, d. h. durch Säurebehandlung völlig entfärbter Körper, der seine Kernnatur nicht verleugnen kann, da ihm im vorliegenden Falle das starke Lichtbrechungsvermögen noch erhalten geblieben ist. Ein solcher Typus inversus stellt nun keinen besonderen Degenerationszustand der Zelle vor, sondern gehört in die Rubrik der Karyolyse.

Bei der Kernlösung machen die Degenerationsvorgänge aber noch nicht Halt. Auch die Protoplasmasubstanz der Zelle ist nicht imstande, schädigenden Einflüssen zum Trotz, die säurefest färbbare Kernsubstanz festzuhalten. In den verschiedensten Stadien karyolytischer Degeneration erblicken wir die drei folgenden Zellen.

Von der über große Strecken hin noch recht intensiv gefärbten Zelle (Fig. 12) über die nur noch zum geringsten Teil blaßrot gefärbte Zelle (Fig. 13) führt uns die Betrachtung zu dem Organismus, bei dem nur noch die der Membran zunächstliegenden Protoplasmaschichten durch ihren rötlichen Hauch darthun, daß auch diese Zelle einmal einen Kern besessen hat (Fig. 14).

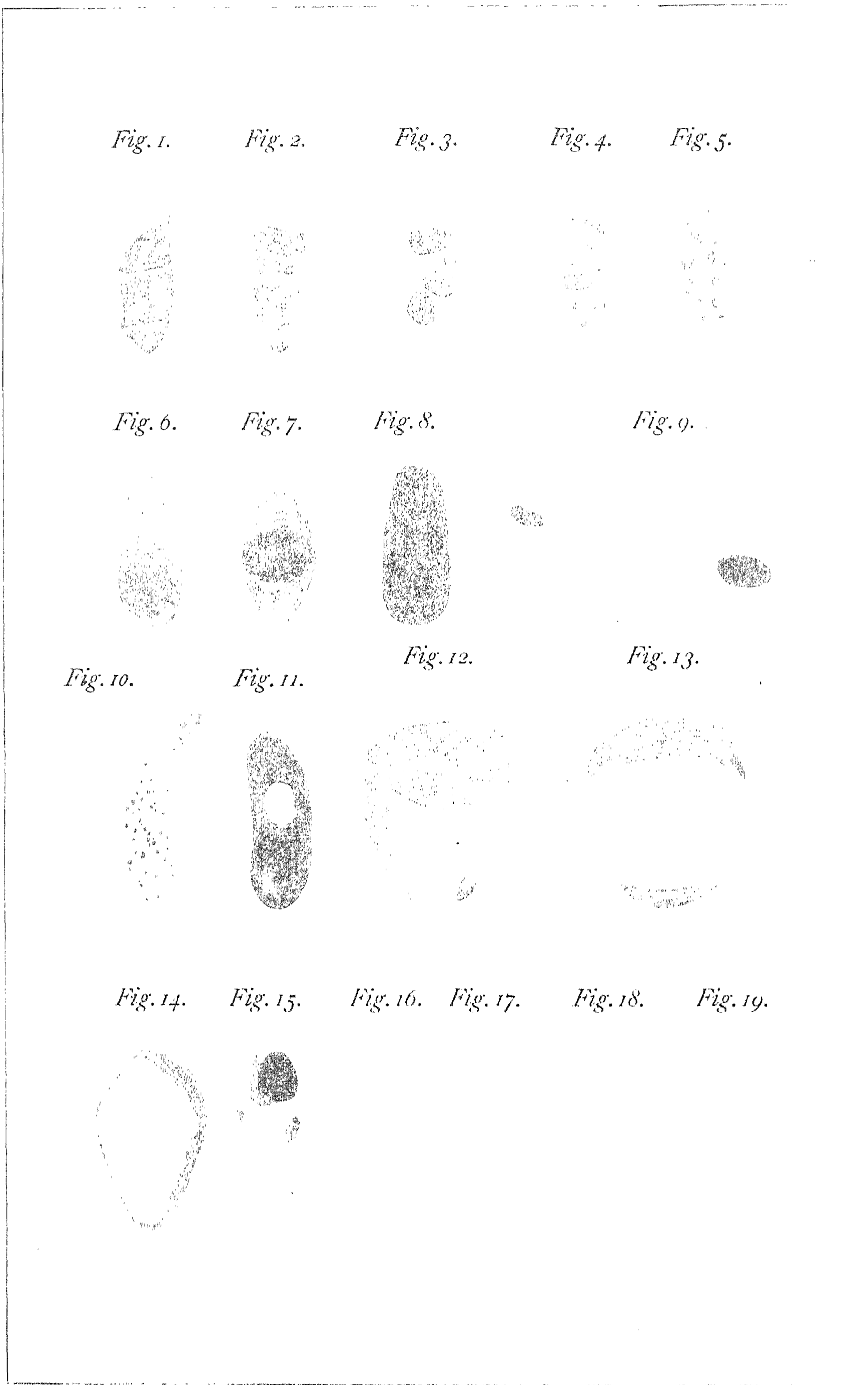
Diese Bilder leiten hinüber zu den Zellen, bei denen der Kernverlust vollkommen geworden ist. Bei ihnen kann von einem eigentlichen Kern nie die Rede sein; auch ungefärbte Kerntrümmer sind schließlich nicht mehr zu entdecken. In Fig. 15 sehen wir den größten Teil des Kerns noch erhalten. Ihm ist — flächenhaft gesehen — eine sichelförmige Scheibe oder — figürlich gedacht — eine Kugelkalotte an- bezw. aufgelagert, die unter dem Einfluß karyolytischer Agentien eine hellere Färbung aufweist als der Hauptteil der Kernmasse. Außer diesem Kernrest sehen wir noch eine kleinere Zahl von Kernbröckeln, die zum Teil noch im stande gewesen sind, gegenüber der 2-proz. Schwefelsäure die Fuchsinfärbung festzuhalten, zum Teil aber auch diese Fähigkeit verloren haben. Alle besitzen aber noch das starke Lichtbrechungsvermögen. Dies Bild ist noch insofern interessant, als wir hier verhältnismäßig große Kernfragmente an scheinbar beliebigen Stellen der Zellwand erblicken, wie sie teils in Auswanderung begriffen sind, teils auch schon außerhalb der Zelle liegen.

An dieser Stelle muß die Frage aufgeworfen werden, wo denn eigentlich die färbbare Substanz des Kernes bleibt? Die Art des Austrittes aus der Zelle in geformten Stücken haben wir eben besprochen. Den Austritt der gelösten Substanz werden wir in meiner nächsten Arbeit kennen lernen, in der ich auch noch weitere Beweise dafür erbringen werde, daß alle hier beschriebenen Vorgänge am Kern nur Degenerationserscheinungen sind. Bei der Frage nach dem Verbleib der färbbaren Kernsubstanz ist natürlich auch an eine Umwandlung dieser Substanz in eine andere zu denken, die andere Eigenschaften besitzt. Die Möglichkeit einer solchen chemischen Umwandlung ist ja nicht abzuleugnen, einen Beweis für dieselbe habe ich nicht und für wahrscheinlich halte ich sie auch nicht, zumal mit den sicher erwiesenen Vorgängen des Austrittes von Kernsubstanz in Lösung und in Stücken das Verschwinden des säurefest färbbaren Kernanteils genügende Erklärung findet.

So viel geht ferner noch klar aus dem Vorhandensein der gefärbten und der ungefärbten Kernsubstanz hervor, daß mindestens zwei verschiedene Substanzen im Kern enthalten sind[1]).

Außer dem Verlust des säurefest färbbaren Kernanteils können die Zellen weiterhin auch noch den Verlust des Kernrestes erleiden. Der Kernrest ist hier vorwiegend qualitativ, bei Fig. 4 dagegen in

1) Nach dem Referat im Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. IV. 1898. p. 930 haben Janssens und Leblanc auf Grund zahlreicher mikrochemischer Reaktionen Nukleïn in den Körnchen des Plasmas, die sie also auch gesehen haben, und im Kern nachgewiesen. Letzterer besteht aus Nukleïn und einer eiweißhaltigen Substratsubstanz und ist als „nucléole-noyau" im Sinne Carnoy's (Biologie cellulaire) anzusehen. (Janssens und Leblanc, Recherches cytologiques sur la cellule de levure. — La Cellule. T. XIV. Fasc. 1. p. 203—243.)



Dr. Hirschbruch. Verlag von **Gustav Fischer**, Jena. P. Weise, Lith., Jena.

der Hauptsache quantitativ vom Gesamtkern verschieden. Wir sehen Zellen mit mehreren (Fig. 16) und solche mit nur einem einzigen entfärbten Kernrest (Fig. 17). Aber auch dieser letzte Rest verschwindet noch und der Kernverlust wird vollständig. Die kernlose Zelle sieht wie ein Schatten aus (Fig. 18) und nimmt schließlich unter Protoplasmaverlust und Schrumpfungserscheinungen die sonderbarsten Gestalten an (Fig. 19).

Eine offene Frage ist vorläufig, bis zu welchem Grade der Degeneration noch eine Fortpflanzung möglich ist. Die Fig. 9 und 10 geben zwar eine Auskunft in gewissem Sinne hierauf; ob aber die dargestellten Degenerationszustände der Zelle schon die äußerste Grenze der Fortpflanzungsmöglichkeit bezeichnen, muß ich vorläufig noch unentschieden lassen.

Die Frage nach der Regeneration erkrankter Hefezellen kann ich ebenfalls jetzt noch nicht beantworten.

Im Vorstehenden ist eine große Zahl von Degenerationserscheinungen des Hefekerns geschildert worden. Erschöpft ist das Thema aber auch in dieser Hinsicht nicht, da ich später noch die ganze große Gruppe der Bildung von Sporen werde zu beschreiben haben.

Die Degenerationsvorgänge am Hefekern sind also folgende:

- I. Kernfragmentierung;
  - a) Karyorhexie;
  - b) Karyotrypsie;
    - α) primäre, oder Karyotrypsie im eigentlichen Sinne;
    - β) sekundäre, auf dem Umwege über Karyorhexie.
- II. Kernlösung oder Karyolyse;
  - a) mit vorhandenen geformten Kernresten;
  - b) ohne solche.
- III. Kernverlust;
  - a) Verlust bloß der säurefest färbbaren Kernsubstanz;
  - b) totaler Verlust des Kerns.

Die Zellen mit Kernverlust behalten auch bei vorsichtigster Differenzierung nicht die Spur von Farbe, während (s. Taf. I) normale Zellen außer dem rubinrot gefärbten Kern eine schöne Rosafärbung des Protoplasmas behalten. Daraus schließe ich auf die Identität der bindenden Kern- und Protoplasmasubstanz. Ich bin danach geneigt, einen ganz leichten Grad von Karyolyse für physiologisch zu halten.

Mitteilungen aus der vom kgl. bayer. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.

Einfluss der alkoholischen Gärungsprodukte auf Hefe und Gärverlauf.

Von **Fritz Thibaut.**

Soldan war der Erste, welcher die Einwirkung der gesamten Stoffwechselprodukte auf Hefe insofern zum Gegenstand einer Unter-

suchung gemacht hat[1]), indem er einer durch Hefe vergorenen Nährlösung so lange Zucker zufügte, als noch Gärung eintrat und die Mengen Zucker ermittelte, welche die Hefe in der mit Gärungsprodukten angereicherten Flüssigkeit überhaupt zu vergären vermochte.

Eine andere Erscheinung tritt zu Tage, wenn sich an einer Gärung zwei oder mehrere Hefearten beteiligen, wobei sie sich im Verhältnis gegenseitiger Beeinflussung befinden, die je nach der individuellen Befähigung der konkurrierenden Hefen eine gegenseitige oder nur einseitige Bekämpfung oder gegenseitige Begünstigung zur Folge hat und wobei die auftretenden Ausscheidungsprodukte die führende Rolle übernehmen.

Hierher gehören z. B. die Gärungssäuren; denn eine während der Gärung mehr Säure produzierende Hefe wird eine weniger Säure bildende Hefe unter sonst gleichen Gärbedingungen unterdrücken, wenn auch die erhöhte Ausscheidung von Säure der von Natur aus mehr Säure produzierenden einen Hefe vorübergehend die Gärthätigkeit der anderen unter Umständen anzuregen vermag[2]).

Wie Prior hierüber schreibt (a. a. O.), überwuchern aus diesem Grunde in besonderen Fällen die viel Säure produzierenden und auch ertragenden wilden Hefen die empfindlicheren Kulturhefen.

Bei anfangs überwiegender Menge von gegen Säuren empfindlicherer Hefe kann jedoch neben beeinträchtigender Vermehrung derselben eine Gewöhnung an die Ausscheidungsprodukte der anderen Hefe in der Weise eintreten, daß sie ohne weiteren Schaden symbiotisch weiterzuleben vermag; ja, daß sie sogar durch Anpassung sich so erholt, daß die scheinbar stärkere Hefe unterliegt.

Es ist auch die Möglichkeit denkbar, durch Zusatz besonders dargestellter Ausscheidungsprodukte gewisser Hefen den Nährboden für diese zu immunisieren.

Durch diese Art der Züchtung gewisser Organismen für andere könnte ein Nährboden geschaffen werden, der geeignet ist, die Entwickelung anderer Hefen zu begünstigen und ein symbiotisches Gleichgewicht herzustellen, welches allerdings im Verlaufe der Gärung wieder zerstört werden kann.

Diese Form von Symbiose hat man Metasymbiose genannt.

In dem letzten Punkte dürfte auch die Ursache zu finden sein, daß der Vorschlag von Nencki, nämlich durch ein von zwei Hefen gebildetes Spaltungsprodukt, welches jede allein hervorzubringen nicht imstande ist, erhöhte Ausbeute an Alkohol und eine Gärflüssigkeit von bestimmtem Geschmack und Bouquet zu gewinnen, bisher keinen Eingang im Großbetriebe fand.

Während Syree[3]), der an der Nürnberger Versuchsstation über den Konkurrenzkampf zwischen den beiden auch von mir verwendeten Hefen Versuche anstellte, mit Gemischen der beiden Hefen in verschiedenen Mischungsverhältnissen arbeitete, um den

1) Inaug-Diss. Erlangen. 1897 und Bayer. Brauer-Journal. 1898. p. 563 ff.
2) Prior, Chemie und Physiologie des Malzes und des Bieres. p. 407 ff.
3) Inaug.-Diss. Erlangen. 1898; Bayer. Brauer-Journal. 1899. p. 6 ff.; Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. V. p. 6 ff.

gegenseitigen Einfluß der Stoffwechselprodukte auf die Hefen zu studieren, habe ich in der vorliegenden Arbeit auf Veranlassung des Herrn Prof. Dr. Prior, Vorstand der Nürnberger Versuchsstation für Bierbrauerei, lediglich die Einwirkung der Stoffwechselprodukte einer Hefe, wie sie sich nach deren Endvergärung im Soldan'schen Sinne ergeben, auf gärtüchtige Hefe studiert und dabei sowohl die Produkte der eigenen Hefe, als auch die der anderen Hefe auf dieselbe einwirken lassen.

Die zu den Versuchen verwendeten Hefen sind Saccharomyces Pastorianus III, eine wilde, von Emil Chr. Hansen entdeckte Hefe, die sich oft als ungebetener Gast im Gärungsbetriebe einstellt und Anlaß zu Biertrübungen giebt, und die Kulturhefe Frohberg.

Bevor ich auf die Gewinnung der Stoffwechselprodukte eingehe, sei erwähnt, daß, um zu vergleichenden Resultaten zu gelangen, wie dies bei den physiologischen Arbeiten an der Nürnberger Versuchsstation üblich ist, eine Nährlösung von bestimmter chemischer Zusammensetzung und nicht Bierwürze oder dergleichen Flüssigkeiten, und immer Hefe in dem nämlichen Vegetationszustande verwendet wurde. Die Nährlösung bestand aus einer 10-proz. invertzuckerfreien Rohrzucker-Hefewasserlösung von bestimmtem Gehalte, welche in bekannter Weise hergestellt und deren Zusammensetzung nach den an der Station üblichen und schon öfters beschriebenen Methoden vor der Verwendung festgestellt wurde[1]).

Das Rohrzucker-Hefewasser ergab folgende Analyseresultate pro 100 ccm:

Spez. Gewicht bei 17,5° 1,0194 Zucker- und Hefewasserextrakt 9,92 Balling.
Polarisation 6,55° = 9,84 Rohrzucker,
Inversion 9,71 Rohrzucker,
Stickstoff 0,0448 g,

Fixe Säuren	3,0	ccm $^1/_{10}$ N. NaOH,
Flüchtige Säuren	0,55	" " "
Primäre Phosphate	1,4	" " "
Gesamtacidität	5,2	" " "

Zum Impfen der Anstellkolben wurde frisch hergeführte Hefe, die 24 Stunden durch Umimpfen eines Tropfens aus dem jeweiligen Bodensatze in sterile Würze gärtüchtig erhalten wurde, verwendet.

Auf diese Weise gelangte bei jeder Aussaat eine Hefe von gleichem Vegetationszustande zur Gärung. Zur Verhütung von Infektionen wurde die jedesmalige Impfung unter bekannten Vorsichtsmaßregeln vollzogen.

Um thunlichst zuverlässige Resultate zu erhalten, wurden für jede Hefeaussaat von 4—5 Präparaten je fünfmal sechs nebeneinander liegende Quadrate des Zeiß'schen Objektnetzmikrometers ausgezählt und das Mittel der Anzahl Zellen, die auf ein Quadrat

1) Soldan, S., Inaug-Diss. Erlangen. 1897; Bayer. Brauer-Journal. 1898. p. 563 ff.

treffen, berechnet. Durch Multiplikation mit 4000 und unter Berücksichtigung der Verdünnung erhielt ich die Anzahl Zellen pro cmm, woraus die zur Impfung von 150 ccm Anstellflüssigkeit notwendigen Kubikcentimeter Hefeschüttelflüssigkeit sich berechnen ließen.

Um zu verhüten, daß flüchtige Gärungsprodukte während der Gärung verloren gehen, wurde der Wattepfropf durch einen mit strömendem Wasserdampf sterilisierten Verschluß ersetzt, der aus einer U-förmig gebogenen Röhre bestand, deren unterer Teil mit sterilem Wasser gefüllt war.

Während der Gärdauer wurden die Anstellkolben täglich 2mal umgeschüttelt, damit durch die Auflockerung des Bodensatzes den einzelnen Zellen Gelegenheit gegeben war, sich in gleichmäßiger Weise an der Gärung zu beteiligen.

Die Gärungen wurden bei Kellertemperatur nach Ablauf von 8, 14, 28, 42 Tagen, die bei Zimmertemperatur nach 4, 8, 14, 28 Tagen unterbrochen und die vergorenen Flüssigkeiten analysiert.

Vor jeder Analyse wurde die Gärflüssigkeit auf das Doppelte des ursprünglichen Volumens mit destilliertem Wasser aufgefüllt, nachdem sowohl der Kolben als das U-Röhrchen gründlich mit destilliertem Wasser nachgespült waren.

Sodann wurde durch tüchtiges Schütteln die CO_2 ausgetrieben und 10 ccm zur Hefezählung verwendet; das Uebrige aber solange filtriert, bis sich eine klare Untersuchungsflüssigkeit ergab.

Durch Analyse wurde bestimmt:

1) Dextrose und Lävulose,
2) Invertzucker,
3) Rohrzucker,
4) Alkohol,
5) Gesamtsäure,
6) Flüchtige und fixe Säuren,
7) Anzahl der gebildeten Zellen.

Um die Zellenvermehrung festzustellen, wurde in derselben Weise wie bei der Aussaat verfahren. (Fortsetzung folgt.)

Ein Beitrag zur Alinitfrage.

Von **S. Severin.**

[Aus dem Laboratorium der bakteriologisch-agronomischen Station der Kaiserl. russischen Acclimatisationsgesellschaft für Pflanzen und Tiere in Moskau.]

(Schluß.)

Derartig sind die Ergebnisse unserer vergleichenden Untersuchungen über zwei Megatherium-Stämme und eine Varietät des Ellenbachensis. Was nun die von Král bezogene Ellenbachensis-Kultur, welche gar nicht die Eigenschaft besaß, Nitrate zu reduzieren, anbelangt, so erweckte diese Kultur, wie wir bereits oben angedeutet haben, bei uns den Verdacht, daß im Alinit neben

der oben geschilderten Varietät noch eine andere nicht denitrifizierende und mit der von Král stammenden Ellenbachensis-Kultur vollkommen identische enthalten sei. Dieser Verdacht hat sich bestätigt, und wir haben aus dem Alinit eine in allem mit der von Král bezogenen identische Kultur isoliert. Somit werden wir, nun zu einem Vergleich der nicht denitrifizierenden mit der oben geschilderten denitrifizierenden Rasse übergehend, zugleich auch einen Vergleich der letzteren mit dem von Král bezogenen Ellenbachensis machen. Die Ergebnisse dieses Vergleichs sind derartig, daß sich aus denselben äußerst schwer irgend welche mehr oder weniger wesentliche Unterschiede zwischen den zu vergleichenden Kulturen ableiten lassen; diese Unterschiede sind so winzig und jedesmal so inkonstant, daß man genötigt ist, eine vollständige Identität der beiden Kulturen zu folgern. Wie sehr winzig und inkonstant diese Unterschiede sind, kann man aus folgenden Beispielen schließen: Agarstriche unterscheiden sich bisweilen darin, daß bei der nicht denitrifizierenden Kultur an den Rändern des Rasens verschlungene fadenförmige Ausläufer zu sehen sind, wodurch die Strichkultur ein filzartiges Aussehen erhält, während die denitrifizierende Kultur, wie oben geschildert wurde, nur kurze, gerade Härchen aufweist. Strichkulturen bilden ein anderes Mal bei beiden Varietäten gar keine Härchen und sind darum einander ganz gleich, aber dann erscheint irgend eine andere winzige Differenz, z. B. eine Strichkultur ist ganz opak, während die andere etwas feucht glänzend ist. Die Kolonieen auf Agar sind bei beiden Kulturen vollkommen gleich, jedoch kann man auch hier bisweilen wahrnehmen, daß bei der nicht denitrifizierenden Varietät die Locken stärker ausgeprägt sind — alle Windungen der Locken sind deutlich und genau zu sehen, während bei der denitrifizierenden Kultur dieses nicht so scharf ausgeprägt ist. Ebenso ist das Wachstumsbild der Kolonieen auf Gelatine bei beiden das vollständig gleiche, und wenn mitunter eine Differenz sich zeigt, so äußert sich dieselbe z. B. in folgender Kleinigkeit: Bei der denitrifizierenden, ganz ausgewachsenen, in vollständiger Verflüssigung sich befindlichen Kolonie erscheint das Centrum der Kolonie als helle, leere Stelle, während bei der nicht denitrifizierenden Kolonie, in demselben Verflüssigungsstadium, das Centrum als dunkler Fleck, wo sich die Kulturmasse am dichtesten angehäuft hat, erscheint. Strichkultur in gewöhnlicher Gelatine bei beiden Varietäten gleich: Verflüssigung trichterförmig, der Unterschied besteht anscheinend nur darin, daß bei der nicht denitrifizierenden Kultur der Verflüssigungstrichter geringere Dimensionen, als bei der denitrifizierenden hat, d. h. daß bei der ersteren die Verflüssigung den Stichkanal entlang etwas schwächer, als bei der zweiten ist. In Zuckergelatine ist bei der nicht denitrifizierenden Kultur die schwächere Verflüssigung längs des Stichkanals noch kenntlicher, während dieselbe bei der denitrifizierenden ebenso reichlich war, wie in gewöhnlicher Gelatine. Doch ist auch dieser Unterschied lange kein konstanter, so konnten wir einmal aus Alinit eine denitrifizierende Kultur züchten, welche in allem mit der ursprünglichen

oben geschilderten sich deckte, aber in Zuckergelatine konstant ein abweichendes Verflüssigungsbild erzeugte, und zwar war die Schnelligkeit der Verflüssigung und die Form der Schale im Umkreis der Einstichöffnung die gleiche, wie in dem oben geschilderten Bilde, aber längs des Stichkanals bestand gar keine Verflüssigung, und nicht nur eine Verflüssigung, sondern sogar der Stichkanal selber war nicht gekennzeichnet, als ob er gar nicht gemacht worden wäre; die Reaktion der verflüssigten Gelatine bei der nicht denitrifizierenden Varietät ist auch schwach alkalisch, sowohl in gewöhnlicher als auch in Zuckergelatine. Wachstum in Bouillon hat bei der nicht denitrifizierenden Varietät das gleiche Aussehen, wie bei der denitrifizierenden, bald bildet sich ein Häutchen, bald nicht, zähschleimiger Bodensatz, teilweise schleimige Veränderung der ganzen Bouillon, aber letztere ist schwächer ausgeprägt, als bei der denitrifizierenden Kultur, Reaktion der Bouillon schwach alkalisch; Bouillon mit Zusatz von 0,3 Proz. KNO_3 zeigt dasselbe Bild. Strichkultur auf Kartoffel ist bei der nicht denitrifizierenden Varietät häufig die gleiche, wie bei der denitrifizierenden, aber mitunter wird ein geringer Unterschied wahrgenommen, welcher darin besteht, daß bei der ersteren Kultur der centrale Teil des Striches, d. h. diejenige Stelle der Kartoffelscheibe, welche von dem Platindraht bestrichen wurde, mehr dunkelbraun gefärbt ist, und näher zur Peripherie der Belag die übliche der Farbe der Kartoffelscheibe nahestehende Färbung annimmt, während bei der denitrifizierenden Varietät die ganze Strichkultur stets von gleichmäßiger Farbe ist. Wachstum in Milch bei beiden Kulturen ganz gleich, Reaktion und Geruch der Milch gleich. Bei einigen Impfungen der nicht denitrifizierenden Kultur tritt die Veränderung der Milch etwas später ein, als bei der denitrifizierenden. In anaërober Bouillon mit und ohne Nitratzusatz wächst die nicht denitrifizierende Kultur, aber kümmerlich und dabei ganz gleich, sowohl bei Nitratzusatz als auch ohne ihn; im allgemeinen gedeiht diese Rasse in anaërober Bouillon schwächer, als die denitrifizierende. In Bezug auf Form und Größe der Stäbchen, sowie auch den Charakter ihrer Eigenbewegung stehen beide Kulturen einander sehr nahe, allerdings werden mitunter einzelne Unterschiede wahrgenommen, aber dieselben sind so winzig und so variabel, daß sich über sie schwerlich etwas Bestimmtes sagen läßt.

Somit lassen sich aus dieser vergleichenden Darstellung zwei Schlußfolgerungen ableiten: 1) Beide von uns aus dem Alinit gezüchteten Kulturen stehen einander außerordentlich nahe; wenn oben auch einzelne Unterschiede zwischen ihnen konstatiert wurden, so sind dieselben so winzig und so variabel, daß es unmöglich ist, sie zu Artmerkmalen zu stempeln. Der einzige hervorstechende Unterschied ist das verschiedene Verhalten dem Nitrat gegenüber. Auf Grund dieser Ergebnisse muß man annehmen, daß diese beiden Kulturen in ihrem Verhältnis zu einander nicht mehr als Varietäten sind. Unter anderem wird, auf welche Ueberlegungen gestützt, weiß ich nicht, der Alinitmikrobe von Allen als B. Ellenbachensis α bezeichnet, diese Bezeichnung mit dem griechischen

Buchstaben α hat durch sonderbaren Zufall gewissermaßen die zukünftige Entdeckung einer anderen Ellenbachensis-Rasse, welche mit einem anderen Buchstaben bezeichnet werden könnte, vorausbestimmt. Aus diesem Grunde nun machen wir den Vorschlag, die von uns jetzt aufgefundene andere Ellenbachensis-Rasse mit dem Buchstaben β zu bezeichnen. In Anbetracht dessen, daß alle Autoren, mit Ausnahme von Hartleb in der letzten Zeit, es nur mit der denitrifizierenden Kultur zu thun hatten, welche mit α bezeichnet wird, kann man die andere nicht denitrifizierende Rasse mit dem Buchstaben β bezeichnen, obgleich diese letztere von Král uns zugekommene Rasse auch mit α bezeichnet war. 2) Eine vergleichende Untersuchung über B. Ellenbachensis α und β einerseits und B. megatherium andererseits ergiebt fast in allen Punkten den einen oder anderen Unterschied zwischen denselben. Im allgemeinen muß, abgesehen von allen Unterschieden in ihrem Wachstumsbilde auf verschiedenen Nährböden, hervorgehoben werden, daß Megatherium schwächeres Wachstum auf Gelatine entfaltet, letztere weniger schnell verflüssigt, nicht so üppig in Bouillon gedeiht und in derselben einen Bodensatz von ganz anderem Charakter bildet; weiter erweist sich Megatherium als strengerer Aërobe als Ellenbachensis, und endlich besitzt Megatherium in geringem Maße die Fähigkeit, Milchzucker in Milchsäure umzuwandeln. Dafür spricht wenigstens das Auftreten einer saueren Reaktion in Milch und in Gelatine mit Milchzuckerzusatz, was beim Ellenbachenis α und β nicht der Fall ist.

Vergleicht man nun unsere Angaben über die kulturellen Merkmale mit den sehr ausführlichen diesbezüglichen Daten, welche im Centralblatt dieses Jahres von Dr. B. Heinze in seiner Arbeit „Ueber die Beziehungen der sogenannten Alinitbakterien — B. Ellenbachensis α Caron — zu dem B. megatherium de Bary, bezw. zu den Heubacillen — Bac. subtilis Cohn“ angeführt werden, so kann man den Schluß ziehen, daß der Alinitmikrob und B. megatherium, mit denen Heinze experimentierte, mit denjenigen Mikrobien, mit welchen wir es zu thun hatten, identisch waren. Wenigstens sind die von Heinze geschilderten kulturellen Merkmale, abgesehen von Details im Wachstum der Kulturen, welche häufig unter dem Einfluß nicht näher zu bestimmender Ursachen variieren, den unserigen, mit Ausnahme von nur zwei sehr wesentlichen Punkten sehr nahe. Heinze betont die schleimproduzierende Fähigkeit des Megatherium im Gegensatz zu dem Alinitmikroben; unseren Ergebnissen nach ist dieses Verhältnis eher ein umgekehrtes; allerdings bildet Megatherium auf Agar einen feuchtglänzenden und etwas schleimigen Belag, während Ellenbachensis eine trockene, opake Auflagerung erzeugt, aber in Bouillon ist das Bild ein ganz anderes. B. megatherium entwickelt sich sehr langsam und kümmerlich, der geringe Bodensatz zeigt nicht die geringste Spur von Zähigkeit, denn er wirbelt beim Schütteln der Bouillonkultur sehr leicht in Gestalt kleiner Flocken auf und verteilt sich ebenso leicht in der Bouillon; ganz anders beim Ellenbachensis — sowohl die Rasse α als

auch β bilden nicht nur einen zähschleimigen Bodensatz, sondern auch die Bouillon selber, besonders bei α, wird schleimig. Ein weiterer Gegensatz zwischen den Angaben Heinze's und den unserigen bezieht sich auf die Frage, ob die verglichenen Bakterien mehr oder weniger anaërob sind. Was den Alinitmikroben anbelangt, so sind unsere Ergebnisse übereinstimmend, d. h. der B. Ellenbachensis, besonders α, ist durchaus nicht ein so strenger Aërobe, wie es die anderen Forscher behaupten, denn er kann sich sogar unter streng anaëroben Verhältnissen noch entwickeln, dagegen ist B. megatherium, entgegen den Heinze-schen Angaben, unbedingt ein strenger Aërobe, denn unter streng anaëroben Verhältnissen zeigt sich nicht die geringste Spur von Wachstum. Die Unterschiede in dem Bilde der Gelatinestichkulturen, wie sie oben geschildert wurden, sprechen auch dafür, daß B. megatherium ein strengerer Aërobe ist, als Ellenbachensis. Nichtsdestoweniger wird durch diese beiden wesentlichen Unterschiede, in Anbetracht der sehr großen Uebereinstimmung der kulturellen Merkmale in vielem übrigen, unsere Behauptung, daß die Heinze'schen Bakterienkulturen mit den unserigen identisch sind, nicht ganz ausgeschlossen werden. Vielleicht sind diese Unterschiede durch verschiedene Eigenschaft des Fleisches, welches zur Zubereitung der Heinze'schen und unserer Nährböden gedient hat, bedingt, vielleicht sind hier auch noch irgend welche andere Umstände, welche diese Unterschiede verursachen, und welche wir augenblicklich nicht aufzudecken im stande sind, im Spiele.

Wir wenden uns nun den weiteren Resultaten unserer Untersuchung zu. Wie schon oben mitgeteilt wurde, ist B. Ellenbachensis von uns aus dem Alinit in zwei Varietäten gezüchtet worden — von diesen reduziert die Rasse α Nitrate, während die Rasse β sich gegen letztere indifferent verhält. Wir untersuchten die denitrifizierende Fähigkeit in gewöhnlicher Fleischpeptonbouillon mit Zusatz von 0,3 Proz. KNO_3, und da wir dabei uns bloß mit qualitativen Reaktionen begnügten, so können wir deshalb nicht angeben, wie weit bei der Rasse α die Reduzierung des Nitrats vor sich geht. Die Rasse α bildet in Nitratbouillon salpetrige Säure und Ammoniak, aber die Ammoniakreaktion erhält man bei dieser Rasse auch in gewöhnlicher Bouillon ohne Nitratzusatz, so daß das in Nitratbouillon sich bildende Ammoniak zweifellos der Bouillon selber entstammt, aber ein Teil desselben bildet sich vielleicht als Reduzierungsprodukt des Nitrats; letzteres geschieht wahrscheinlich in der That, denn Nitratbouillon ergiebt stets eine intensivere Reaktion mit dem Nessler'schen Reaktiv, als eine gewöhnliche Bouillonkultur. Von einer Reduzierung bis zu freiem Stickstoff kann nicht die Rede sein, weil die für diesen Prozeß charakteristische Schaumbildung fehlt. Was die Rasse β anbelangt, so bildet sie keine salpetrige Säure, wohl aber Ammoniak, welcher zweifellos der Bouillon entstammt, denn Ammoniak bildet sich auch in gewöhnlicher Bouillon ohne Nitratzusatz, wobei kein kenntlicher Unterschied in der qualitativen Reaktion, wie in Nitratbouillon, so

auch in gewöhnlicher vorhanden ist; im Vergleich zur Rasse α ist die Ammoniakbildung in Bouillon bei der Rasse β schwächer. In anaërober Bouillon wachsen, wie bereits oben angeführt wurde, beide Rassen, aber dürftig, wobei die Rasse α in Nitratbouillon üppiger als in gewöhnlicher, die Rasse β gleich dürftig sowohl in gewöhnlicher als auch in Nitratbouillon gedeiht. Salpetrige Säure wird auch hier nur von der Rasse α gebildet, nebenbei wird auch Ammoniak erzeugt, aber in gewöhnlicher anaërober Bouillon bildet diese Rasse bereits kein Ammoniak; demnach entstammt in anaërober Bouillon der Ammoniak bei der Rasse α anscheinend ausschließlich dem Nitrat; die Rasse β bildet Ammoniak weder in gewöhnlicher noch in Nitratbouillon. Was den B. megatherium anbelangt, so bildet er unseren Versuchen nach sowohl in gewöhnlicher als auch in Nitratbouillon weder Ammoniak noch salpetrige Säure; wir stellten noch nach Hartleb einen Parallelversuch mit 8-tägiger Durchlüftung einer Bouillonkultur des B. megatherium bei 30° C an, aber auch hier wurde sowohl in gewöhnlicher als auch in Nitratbouillon weder salpetrige Säure noch Ammoniak entdeckt. Auf diese Weise stimmen unsere Ergebnisse mit den letzten Beobachtungen Hartleb's (Repräsentiert das Alinitbakterium eine selbständige Art? Centralbl. f. Bakteriologie. 1899) überein. Es hätte den Anschein, daß er mit der nicht denitrifizirenden Rasse β experimentiert hat, aber bei ihm bildet dieselbe aus unbekanntem Grunde keinen Ammoniak, während bei uns die nicht denitrifizierende Rasse Ammoniak bildet, umgekehrt beim B. megatherium — bei ihm bildet dieser Mikrob in Bouillon Ammoniak, und bei uns nicht. Zieht man einen Vergleich mit den entsprechenden Heinze'schen Angaben, so erhält man auch für den B. megatherium einen Widerspruch — bei Heinze bildet Megatherium in Bouillon Ammoniak, und bei uns nicht, obgleich eine Produktion von HNO_2 weder bei ihm noch bei uns konstatiert wird. In Bezug auf den Alinitmikroben scheuen wir uns zu behaupten, mit welcher Rasse, der denitrifizierenden oder nicht denitrifizierenden, Heinze es zu thun hatte, weil bei ihm ein und dieselbe Kultur des Alinitmikroben bei 37 ½° die denitrifizierende Fähigkeit nicht besaß, bei 23° dagegen eine energische Reduzierungsfähigkeit entfaltete. Leider vollendeten wir die vorliegende Arbeit und ließen dieselbe in den Berichten der bakteriologisch-agronomischen Station der Acclimatisationsgesellschaft noch vor Erscheinen der Heinze-schen Arbeit abdrucken, weswegen wir auch nicht die Möglichkeit hatten, an unseren Kulturen des Alinitmikroben die Beobachtung Heinze's in Betreff der denitrifizierenden Fähigkeit der Mikroben bei verschiedenen Wärmegraden nachzuprüfen, sowie auch auf exaktere Weise aufzuklären, ob unser B. megatherium in der That mit jenem Megatherium, mit welchem Heinze experimentierte, identisch sei.

In der Folge stellten wir uns zur Aufgabe festzustellen, mit welcher Energie die Alinitbakterien organische Substanz zersetzen, indem wir dazu ein derartig an organischen Substanzen reiches Substrat benutzten, wie es der Stallmist ist. Die Versuche waren

ebenso genau organisiert, wie unsere früheren, in den Arbeiten „Die im Miste vorkommenden Bakterien etc.“ [1]) publizierten Versuche, d. h. es wurden in 2 Erlenmeyer'sche Kolben 2 Portionen ganz frischen Pferdemistes genommen, jede Portion war aus 150,0 Exkremente, 15,0 Stroh, 50 ccm unmittelbar vom Pferde aufgefangenen Urins und 50 ccm Wasser zusammengesetzt; beide Portionen wurden im Autoklaven sterilisiert, und danach wurde eine Portion mit der Rasse α, die andere mit der Rasse β geimpft. Während der ganzen Versuchszeit wurden die Gefäße mit dem Miste durchlüftet, beide Mistportionen wurden bei Bruttemperatur 30^0 gehalten. Als Kriterium der Zersetzungsenergie des Mistes diente die Ausscheidung von CO_2 und NH_3 aus dem Miste. Folgende Tabelle zeigt die Resultate des ersten Versuches:

I.

Erster Versuch mit Rasse α Beginn am 15. September 1901		Zweiter Versuch mit Rasse β Beginn am 13. September 1901	
Datum der Gewichtsbestimmungen	Menge der ausgeschiedenen CO_2	Datum der Gewichtsbestimmungen	Menge der ausgeschiedenen CO_2
20. IX.	0,5140	18. XI.	0,1962
25. IX.	0,1896	23. XI.	0,5998
30. IX.	0.1868	28. XI.	0,7872
5. X.	0,2104	3. XII.	0,6080
Im ganzen binnen 20 Tagen	**0,7408**	8. XII.	0,6010
NH_3-Ausscheidung binnen 20 Tagen	0	13. XII.	0,4852
		Im ganzen binnen 30 Tagen	**3,2774**
		NH_3-Ausscheidung binnen 30 Tagen	0

Beim ersten Versuch wurde, in Anbetracht der spärlichen CO_2-Ausscheidung, welche eine mißglückte Impfung vermuten ließ, am 25. September die Impfung mit dem Mikroben α wiederholt, aber wie aus der Ziffer zu ersehen ist, ist danach keine wesentliche Aenderung eingetreten. Nach Vollendung der Versuche hatten sich beide Portionen ihrem Aussehen nach wenig verändert, stellenweise ist der Mist dunkler geworden, und zwar mehr der mit der Rasse β geimpfte, beide Portionen sind kenntlich eingetrocknet, Ammoniakgeruch ist weder in der einen noch in der anderen Portion zu spüren.

Die bakteriologische Analyse ergab, daß die Rasse α in dem Miste nur stellenweise gedieh — die einen Impfungen auf Platten zeigten eine erhebliche Anzahl von Kolonieen dieses Mikroben, während auf anderen Platten ihrer sehr wenige waren; die Rasse β gedieh im Miste üppig und anscheinend an allen Stellen der Versuchsportion. Da wir bei diesen Versuchen eine energische Ausscheidung von CO_2 und vielleicht auch von NH_3 erwarteten, ein derartiger Effekt aber ausblieb, so beschlossen wir, den Versuch

1) Centralblatt f. Bakteriologie. 1901, 1897 und 1895.

zu wiederholen, um sicher zu sein, daß hierbei keine Zufälligkeiten im Spiele waren. Doch ergab auch der zweite Versuch ganz dasselbe Resultat.

II.

Dritter Versuch mit Rasse α Beginn am 13. November 1901		Vierter Versuch mit Rasse β Beginn am 15. Januar 1902	
Datum der Gewichtsbestimmungen	Menge der ausgeschiedenen CO_2	Datum der Gewichtsbestimmungen	Menge der ausgeschiedenen CO_2
18. XI.	0,1294	20. I.	0,1324
23. XI.	0,0950	25. I.	0 5390
28. XI.	0,2184	30. I.	0,9192
3. XII.	0,3082	4. II.	0,7934
Im ganzen binnen 20 Tagen	0,7510	9. II.	0,4860
8. XII.	0,3712	13. II.	0,4508
13. XII.	0,3328	Im ganzen binnen 30 Tagen	**0,33208**
Im ganzen binnen 30 Tagen	**1,4550**	NH_3-Ausscheidung binnen 30 Tagen	0
NH_3-Ausscheidung binnen 30 Tagen	0		

Bei dem dritten Versuche wurde am 23. November, d. h. 10 Tage nach Beginn des Versuches, aus denselben Erwägungen, wie im ersten Versuch, die Impfung mit dem Mikroben α wiederholt. Das Aussehen der Mistportionen nach Abschluß des Versuches war ganz dasselbe, wie in den ersten Versuchen, dasselbe Resultat ergab auch die bakteriologische Analyse. Somit kann man aus diesen Versuchen folgenden Schluß ziehen: 1) ammoniakalische Harngärung wird weder von der einen, noch von der anderen Rasse erzeugt; 2) Rasse α vollzieht den Oxydationsprozeß im Mist merkbar schwächer als Rasse β und 3) beide Rassen entfalten im allgemeinen hinsichtlich der Zersetzung der organischen Substanz des Mistes eine schwache Thätigkeit. Bei letzterer Schlußfolgerung stützen wir uns darauf, daß bei unseren früheren Versuchen bezüglich der Frage „Ueber die Bakterienflora des Pferdemistes" einige Mikroben beteiligt waren, welche, bei Vegetation im Miste, ihre Oxydationsenergie in sichtbar größeren Ausscheidungsziffern von CO_2 und mitunter gleichzeitig mit NH_3-Ausscheidung an den Tag legten. So hat binnen derselben 30 Tage und unter ganz denselben Versuchsbedingungen der in unseren früheren Arbeiten mit No. 2 bezeichnete Mikrobe 4,929 CO_2 ausgeschieden, der Mikrob No. 4 5,747 CO_2, der Mikrob No. 9 5,8168 CO_2, B. indicus 6,7154 CO_2 und B. pyocyaneus 7,038 CO_2, die Mikroben No. 2, 4, B. indicus und B. pyocyaneus haben außerdem NH_4 ausgeschieden.

Schließlich vermuteten wir, daß ein grellerer Effekt vielleicht dann zu erzielen sein wird, wenn beide Rassen gleichzeitig in dem Miste vegetieren würden, und stellten darum noch einen Versuch an, in welchem eine Mistportion gleichzeitig mit der Rasse α und β geimpft wurde. Die Resultate dieses Versuches zeigt folgende Tabelle:

III.

Fünfter Versuch mit Rasse α und β Beginn am 15. Januar 1902	
Datum der Gewichtsbestimmungen	Menge der ausgeschiedenen CO_2
20. I.	0,1072
25. I.	0,0776
30. I.	0,2242
4. II.	0,2586
9. II.	0,2846
14. II.	0,3386
Im ganzen binnen 30 Tagen	1,2908
19. II.	0,4908
24. II.	0,4158
NH_3-Ausscheidung	0

Hier wurde, so sonderbar es auch sein mag, ein ganz umgekehrter Effekt erzielt, bei gemeinschaftlicher Vegetation beider Rassen wurde sogar weniger Kohlensäure ausgeschieden, als es bei Vegetation im Mist einer, und dazu der schwächeren Rasse α, der Fall war, es resultiert demnach, daß bei Symbiose diese Rassen sich in ihrer Entwickelung gewissermaßen gegenseitig hemmen. Unter anderem entspricht dieses Resultat keineswegs unseren Beobachtungen in früheren Versuchen, wobei bei Symbiose im Mist irgend welcher zwei Mikroben stets mehr Kohlensäure ausgeschieden wurde, als bei gesonderter Vegetation jeder von diesen Rassen. Das Resultat des in Rede stehenden Versuches unterscheidet sich auch in weiterer Hinsicht von den früheren Versuchen. In letzteren verteilte sich in der Regel die CO_2-Ausscheidung in 5-tägigen Zeiträumen derartig, daß das Maximum der CO_2-Ausscheidung auf die ersten, zweiten oder höchstens dritten 5 Tage seit Beginn des Versuches fiel, wonach die Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure abzufallen beginnt, während in dem Versuche mit dem gemeinschaftlichen Wachstum der Rasse α und β das Maximum erst 35 Tage nach Beginn des Versuches konstatiert wurde. Gesondert betrachtet, macht die Rasse β keine Ausnahme von der oben besprochenen Regel; bei derselben fällt das Maximum der CO_2-Ausscheidung auf die dritten 5 Tage, aber bei der Rasse α ist dieses Maximum bereits bis zu den fünften 5 Tagen verschoben.

Im allgemeinen haben uns diese Mistversuche ein ganz anderes Resultat ergeben, als wir es auf Grund der Stoklas'schen Angaben, laut welchen der Alinitmikrobe als sehr energischer Zersetzer organischer Substanzen erscheint, erwartet hatten; wir erwarteten von unseren Mikroben einen intensiven Oxydationsprozeß im Pferdemiste, in Wirklichkeit aber legten sie ein außerordentlich spärliches Oxydationsvermögen an den Tag, in dieser Beziehung anderen, uns schon bekannten Mikroben weit nachstehend.

Derartig sind die Resultate unserer Untersuchung. Auf Grund dieser Ergebnisse kann man zu folgenden zwei Schlußfolgerungen gelangen: 1) es ist gewissermaßen als wahrscheinlich anzunehmen, daß

das im Handel erhältliche Alinitpräparat ein Gemenge von Reinkulturen beider Rassen des B. Ellenbachensis α und β vorstellt. Wir benutzen die Bezeichnung „Rasse“ deswegen, weil diese beiden Mikroben fast identisch miteinander sind, sowohl der eine wie der andere zersetzen schwach die organische Substanz des Mistes, beiden fehlt die Fähigkeit, ammoniakalische Harngärung zu erzeugen, beide sind peptonisierend und beide zeigen, abgesehen von einzelnen Details, ein und dasselbe Wachstumsbild auf verschiedenen Nährböden; der eine stark ausgeprägte Unterschied zwischen ihnen ist das verschiedene Verhalten gegenüber dem Nitrat. 2) Der B. Ellenbachensis sowohl α als auch β kann keineswegs mit dem B. megatherium, geschweige denn mit dem B. subtilis identifiziert werden. Man muß in Uebereinstimmung mit vielen anderen Forschern annehmen, daß B. Ellenbach. eine selbständige Art sei, welche anscheinend am ehesten als der Anthraxgruppe zugehörig betrachtet werden muß, wenigstens spricht für diese Zugehörigkeit die polare Sporenkeimung beim Ellenbachensis, also ein bestimmteres und konstanteres Merkmal als viele andere, auf Grund welcher einzelne Forscher den Ellenbachensis der Heubacillengruppe zugehörig anzusehen proponieren und welche an und für sich nichts Ausschließliches und Charakteristisches vorstellen, was wirklich lediglich die Heubacillengruppe charakterisieren würde.

Kurz sei noch ein von uns angestellter Versuch, die Alinitwirkung im Felde zu erproben, besprochen. Eigentlich ist der Feldversuch selber nicht von uns, sondern auf unsere Bitte von dem in Rußland bekannten Landwirte Herrn Lewitzki, Gutsbesitzer im Tulaschen Gouvernement, ausgeführt worden. Zu diesem Versuch stellten wir Hrn. Lewitzki eine Trockenkultur eigener Zubereitung nach Art des Alinits zur Verfügung, aber unser Trockenpräparat enthielt nur eine Rasse des Ellenbachensis, nämlich α, die andere Rasse wurde nicht beigemengt, weil wir zu der Zeit von ihrer Existenz noch nichts wußten. Der denitrifizierende Alinitmikrob erhält in dem Präparate unserer Zubereitung sehr lange vollkommen seine Lebensfähigkeit. Wir hatten Gelegenheit, unsere trockenen Präparate ein Jahr nach ihrer Zubereitung zu untersuchen und konnten an denselben irgendwelche ungünstige Veränderungen nicht konstatieren; die Menge der Keime blieb konstant und der Mikrob selber zeigte nach Ausscheidung aus dem Präparat nicht die geringsten morphologischen oder physiologischen Alterationen seiner Natur. Demnach konnte es keinem Zweifel unterliegen, daß mit unserem Präparat in den Boden vollkommen lebensfähige Individuen des B. Ellenbachensis α eingeführt wurden. Die Trockenkultur wurde von uns in Portionen zu 25,0 g zubereitet, wobei die Menge der Keime des Mikroben in einer derartigen Portion, welche für $^1/_4$ Dessjatine (1 Morgen) bestimmt war, im Vergleich mit einer Portion des käuflichen Alinits für denselben Flächenraum ungefähr 10mal so groß war, als im Alinit der Farbwerke Bayer. In dem Freilandversuch des Herrn Lewitzki diente als Versuchsparzelle eine ganze Dessjatine, d. h.

4 Morgen, und dann wurden nebenan zur Kontrolle gleich große Parzellen ohne Impfung mit der Trockenkultur benutzt. Die Versuchsparzelle wurde mit 4 Portionen unseres Präparates geimpft, mit anderen Worten, die 4 Morgen große Versuchsparzelle erhielt eine 10mal größere Menge von Keimen des Alinitmikroben, als wenn das käufliche Alinit in Anwendung gekommen wäre. Der Boden der Versuchsparzellen, wie auch überhaupt sämtlicher Felder des Lewitzki'schen Landgutes, bestand aus Schwarzerde; die geimpfte Versuchsparzelle, sowie auch eine Kontrollparzelle waren niemals mit Mist gedüngt worden, die andere Kontrollparzelle war zuletzt im Jahre 1890 mit Mist gedüngt worden. Derartige erschöpfte, nie gedüngte Parzellen wurden absichtlich gewählt aus dem Grunde, weil, falls der B. Ellenbachensis in der That im Gegensatz zu den übrigen Mikroben organische Substanzen energisch zersetzt, derselbe auf derartig erschöpften Parzellen seine günstige Wirkung kenntlicher ausüben wird, als auf fruchtbaren Parzellen. Sobald derartige erschöpfte Schwarzerdeparzellen ihre Fruchtbarkeit bereits eingebüßt haben, so muß man annehmen, daß sie noch an grundliegenden unwirksamen Nährstoffen einen reichen Vorrat besitzen und im einzelnen als schwarzerdiger Boden an organischen Substanzen reich sind, deswegen müßte ein Mikrob von außerordentlich gesteigerter Lebensthätigkeit, wie sie von Stoklas dem Alinitbacillus zugeschrieben wird, diesen Reichtum teilweise in Fruchtbarkeit umwandeln; für ihn müßten sich noch organische Substanzen finden, welche zu weiterer Zersetzung fähig sind und welche dadurch ein gewisses Quantum für Pflanzen assimilierbarer Stoffe frei machen würden, und wenn der Bacillus dazu noch ein Fixator des atmosphärischen Stickstoffes ist, so würde er von dieser organischen Substanz seinen dazu nötigen Bedarf an Kohlehydraten decken. Von diesem Gesichtspunkte aus geschah die Wahl der Versuchsparzellen. Die Trockenkultur wurde in Wasser mit Zuckerzusatz aufgeschwemmt und mit dieser Flüssigkeit wurde die Saat benetzt; als Versuchspflanze diente Hafer. Das Resultat des Versuches hat nichts Interessantes ergeben — während der ganzen Vegetationszeit des Hafers bis zur Einerntung desselben unterschied sich die geimpfte Parzelle in keiner Weise von den Kontrollparzellen, und im allgemeinen war die Ernte auf allen diesen drei Parzellen fast 2mal so gering, als auf den übrigen Feldern des Landgutes. Mit einem Wort, das Resultat war ein deutlich negatives.

Einfluss des Zuckers auf die Natur der in der Milch und dem Käse vor sich gehenden Gärung.

[Aus dem chemischen und bakteriologischen Laboratorium der Universität von Wisconsin, Agricultural Experiment Station, Madison, Wis.]

Von **S. M. Babcock** und **H. L. Russell.**

Mit 2 Figuren.

Zu den schwierigsten Fragen in der wissenschaftlichen Milchwirtschaft gehören diejenigen merkwürdigen Erscheinungen, die mit dem Reifen des Käses verbunden sind. Diese Fragen sind schon von mehr Forschern studiert worden, als irgend ein anderer fermentativer milchwirtschaftlicher Vorgang, und die diesbezügliche Litteratur ist bereits sehr ausgedehnt. Viele Mißverständnisse sind aber bei diesen Fragen dadurch entstanden, daß das Phänomen der Zersetzung oder Peptonisierung des Caseïns und die Erzeugung des dem Käse eigentümlichen Geschmackes in sehr enge Verbindung miteinander gebracht worden sind. Einige Forscher haben versucht, beide Veränderungen als von einer gemeinsamen Ursache ausgehend zu erklären. Während diese Ansicht natürlich der Thatsache entstammt, daß die beiden Vorgänge unter gewöhnlichen Verhältnissen gleichzeitig stattfinden, zeigen die von uns geleiteten und im Annual Report of the Wisconsin Experiment Station for 1901 besprochenen neuesten Forschungen, daß die beiden Vorgänge ganz von einander getrennt werden können.

Kurz, die Ergebnisse dieser Versuche zeigen entschieden, daß, soweit es den Cheddarkäse betrifft, die Veränderungen im Caseïn, welche dasselbe in lösbare Form umwandeln, und die Erzeugung des gewöhnlichen Geschmackes des reif gewordenen Käses vollkommen von einander trennbar sind. Wo Käse bei viel niedrigerer Temperatur als der normalen (—10, + 1,5° C) hergestellt wurde, machte das Caseïn die charakteristischen proteolytischen Veränderungen durch, obgleich weniger schnell als bei höheren Temperaturen. Unter solchen Bedingungen hatte der Käse, obgleich völlig umgeschlagen, einen außerordentlich milden Geschmack, welcher sich bedeutend von dem unterschied, den gewöhnlich ein alter, zur gründlichen Reife gelangter Käse hat.

Diese Versuche wurden mehrere Male wiederholt und ergaben immer übereinstimmende Resultate, sie zeigten, daß der Vorgang der Geschmacksbildung ganz unabhängig von den Veränderungen sein kann, welche mit der Zersetzung des Caseïns zusammenhängen.

Man war allgemein der Ansicht, daß der charakteristische Geschmack, der bei den verschiedenen Käsearten bemerkt wird, das Ergebnis der Wirksamkeit von Bakterien sei, obgleich der Beweis für diese Behauptung noch lange nicht in befriedigender Weise erbracht ist. Es sind zahlreiche Versuche gemacht worden, um die spezifischen Organismen, die man als die Bildner des charakteristischen Geschmacks ansah, bei bestimmten Käsesorten zu isolieren,

aber in den meisten Fällen waren die Ergebnisse von indifferentem Erfolge.

Die Ansicht, daß diese oder jene Sorte Käse durch diese oder jene besondere Mikrobenart während des Herstellungsvorganges inokuliert oder infiziert wird, läßt die Keimtheorie zu Grenzen ausgedehnt erscheinen, die durch die Thatsachen gänzlich ungerechtfertigt sind. Man kann von derselben Sorte Milch eine ganze Anzahl verschiedener Käse bereiten, wenn die Herstellung sowie die Behandlung richtig ausgeführt wird. Hieraus folgt also, daß die Originalmilch alle die verschiedenen wirksamen Kräfte, die nötig sind, um den gewünschten Geschmack zu erzeugen, enthält, daß aber die Umgebung sowohl während der Herstellung als während der Zeit des Umschlagens bestimmend wirkt, ob dieses oder jenes Agens in Thätigkeit tritt und so die betreffende Art des Geschmackes bewirkt. Eine Veränderung der Umgebung könnte daher leicht die Beschaffenheit des Käses so beeinflussen, daß das Wachstum bestimmter Gattungen bedeutend erleichtert, das anderer jedoch, welche sich in Milch normal entwickeln, sehr unterdrückt wird. Die Möglichkeit ist auch vorhanden, daß eine Veränderung der Umgebung sogar die Beschaffenheit der durch einen spezifischen Organismus sich bildenden Nebenprodukte verändert. Ferner ist es möglich, daß die Wirksamkeit lebloser Kräfte, wie Enzyme, durch Temperaturveränderungen, chemische Reaktion, Feuchtigkeit etc. stark beeinflußt wird.

Die Wirksamkeit des Gesetzes, daß die Umgebung die Eigentümlichkeit lebender Organismen entscheidend beeinflußt, ist allenthalben zu erkennen. Unzählige Beispiele aus der Pflanzen- und Tierwelt zeigen, wie die Entwickelung der verschiedenen Lebewesen schnell der Beschaffenheit ihrer Umgebung entspricht. Das Gesetz, dem diese Kette von Erscheinungen entspricht, ist ebenso wirksam bei mikroskopischen Lebewesen, und ganz zweifellos steht fest, daß das Vorherrschen irgend einer Bakterienart an einem bestimmten Orte in sehr großem Maße von der Beschaffenheit der Umgebung abhängig ist. Während hieraus folgt, daß Gärung irgend welcher Art nur erfolgen kann, wenn die zu solchen Veränderungen erforderlichen spezifischen Organismen vorhanden sind, wird doch der prädisponierte Faktor, der entscheidet, ob solche Organismen gedeihen und sich reichlich entwickeln können, durch die Umgebung, in welche die Organismen gebracht werden, bestimmt.

Die gemeinsamen Erfahrungen verschiedener Käsefabrikanten erkennen die Wirkungskraft der Umgebungsbedingungen beim Feststellen der Beschaffenheit der Nebenprodukte des Käses an. Ein Cheddarkäse unterscheidet sich von einem Schweizer oder Limburger nicht wegen eines der hierzu verwendeten Milch innewohnenden Unterschiedes, sondern weil die Milch derartig behandelt und der Käse auf solche Weise zur Reife gebracht wird, daß sich die Art der Gärung, welche stattfindet, ändert. Bei einem Cheddarkäse entwickeln sich nicht die großen Löcher, die dem Schweizerkäse eigentümlich sind, weil bei der Säureentwicklung, die bei dem Reifen der Milch stattfindet, und welche durch das Wachstum von Milchsäurebakterien bedingt ist, ein Zustand hervorgerufen wird, welcher für die Entwickelung Gas erzeugender Organismen ungünstig ist.

Bei Limburger Käse wird der Quark bei einer niedrigeren Temperatur gekocht, daraus folgt die Beibehaltung größerer Feuchtigkeitsmengen, und diese ändern die Beschaffenheit der Käses derartig, daß hier eine ganz andere Gärung vor sich geht als bei Käse von der Cheddar-Art.

A. Bakterienflora der Milch, wie sie durch die Entfernung von Zucker bewirkt wird.

Auf Grund der Hypothese, daß eine Verschiedenheit in der Zusammensetzung der Milch die Beschaffenheit der Nebenprodukte, die als Ergebnis der bakteriellen Entwickelung erzeugt werden, verändern würde, sind folgende Versuche angestellt worden:

Insofern als die Milchsäurebakterien im Käse vorherrschen und, wie man glaubt, den größten Einfluß auf dessen Eigentümlichkeit ausüben, also auch auf die Erzeugung des Geschmackes, war die Wahrscheinlichkeit vorhanden, daß, wenn die Hauptnahrung dieser Organismen, der Milchzucker, entfernt würde, die Bedingungen so verändert würden, daß die Beschaffenheit der Nebenprodukte und möglicherweise die Eigentümlichkeit der Flora selbst eine wesentlich andere würde.

Um den Milchzucker zu entfernen, wurde Milch dialytisch behandelt. Dies geschah, indem man dieselbe in Pergamenttuben füllte und in fließendes Eiswasser setzte. In ungefähr 2 Tagen war, wie die Fehling'sche Probe beweist, jede Spur von Zucker verschwunden, desgleichen ein großer Teil der Asche. Das Caseïn wird hierdurch nicht verringert, obgleich es natürlich wesentlich verdünnt wird.

Wenn derartig behandelte Milch bei Zimmer- und Inkubatortemperaturen (37° C) gehalten wurde, war das Wachstum der natürlich darin vorhandenen Bakterien ein sehr rapides und lief ausnahmslos in der Erzeugung von Fäulnisprodukten aus, anstatt der Milchsäure, die sich gewöhnlich bildet, wenn Milch sich spontan verändert. Diese Resultate wurden durch zahlreiche Versuche bestätigt. Eine Probe dieser dialysierten Milchsorten auf Indol ergab ohne Ausnahme positive Resultate und der deutliche fäkale Geruch der Milch bestätigte zweifellos Fäulnisbildung an Stelle der gewöhnlichen Säuregärung. Dieses weißt darauf hin, daß der Milchzucker entweder direkt oder indirekt von der Milch Fäulniserzeugende Veränderungen fernhält und giebt auch die Erklärung für den Umstand, daß Milch nicht wie andere proteinreiche organische Lösungen fault.

Zusatz von Zucker zu dialysierter Milch.

Obige Hypothese wurde durch den Zusatz von Zucker (Glukose und Saccharose) zu dialysierter Milch bestätigt. In diesem Falle gerann die dialysierte Kontrollmilch in wenigen Tagen und brachte einen fauligen Geruch hervor, dessen Intensität durch Inkubation bei höheren Temperaturen verstärkt wurde, während die Proben der Milch, denen kein solcher Zucker beigemengt worden war, in 2 Tagen, ohne unangenehmen Geruch zu erzeugen, säuerten.

Diese Unterschiede waren nicht allein deutlich für Auge und Nase zu erkennen, sondern es wurden auch Kulturen solcher Milch

beim Beginne der Experimente gemacht, und nach einem Zeitraume von 4 Tagen brachte die Inkubation eine auffällige Veränderung in den relativen Verhältnissen, die zwischen den verschiedenen, in der Milch enthaltenen Bakterienarten besteht, hervor. Die Anfangsanalyse der dialysierten Milch zeigte eine bedeutende Anzahl verflüssigender Bakterien, aber die Zahl der nichtverflüssigenden war vorherrschend. Nach einer Inkubation von 4 Tagen hatten sich die verflüssigenden Bakterien in den dialysierten Kontrollkulturen bedeutend vermehrt, während diejenigen, denen Zucker beigemengt worden war, viel mehr von der nichtverflüssigenden, nicht Fäulnis erzeugenden Art aufwiesen. Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß das Vorhandensein oder Nichtvorhandensein des Zuckers in der Milch einen bedeutenden Einfluß auf die Beschaffenheit des darin enthaltenen Keimlebens ausübt. Wo Zucker vorhanden ist, herrschen die günstigen Bedingungen für die Entwickelung von Säurebakterien vor; wo der Zucker fehlte, gewannen Fäulniserzeugende Arten die Oberhand in so stickstoffhaltigen Lösungen wie Milch.

Dieses Prinzip, daß Zucker einen inhibierenden Einfluß auf das Faulen von proteiden Stoffen ausübt, ist auch ferner durch die Wirksamkeit ganz geringer Quantitäten zur Verhütung der Indolbildung in Bakterienkulturen bewiesen worden. Man hat auch beobachtet, daß Zucker die Erzeugung proteolytischer oder verdauender Enzyme bei gewissen Bakterien inhibiert.

B. Bakterienflora und Geschmack des Käses, beeinflußt durch die Entfernung von Zucker.

Die vorangegangenen Versuche mit Milch haben gezeigt, daß der Zucker das Faulen proteider Verbindungen verhindert, und dieses Ergebnis führte zu dem Studium über den Einfluß, den die Entfernung des Milchzuckers auf das Umschlagen („curing") und hauptsächlich auf den Geschmack des Käses ausübt. Die Resultate sind im Folgenden zusammengefaßt:

Serie I. Der Käse dieser Serie wurde im Januar und Februar 1900 hergestellt. Der Zucker wurde aus dem Quark entfernt, indem die Molken so zeitig wie möglich abgezogen und durch warmes Wasser ersetzt wurden. Der Quark ist in manchen Fällen mehrere Male gewaschen worden, um die Molken mit ihren lösbaren Produkten gründlich zu entfernen, und auf dem heißen Eisen zeigten sich keine Streifen, welche auf nennenswerte Säureentwickelung hingewiesen hätten. Es wurden im ganzen 30 Käse auf diese Art zubereitet, von denen jeder 25—30 Pfd. wog[1]).

Dieselben wurden in einem Käsekeller bei ungefähr 15—18° C behandelt und für jeden Satz war ein Kontrollkäse da, welcher auf die übliche Cheddar-Art gemacht worden war.

---

1) In Verbindung mit dem oben Gesagten ist die Thatsache zu beachten, daß diese Versuche in kaufmännischem Stile betrieben worden sind, wo Tausende von Pfund Milch zur Herstellung der Proben gebraucht wurden. Zum großen Teil sind die bisherigen Versuchsarbeiten über Käseherstellung, wie wohl behauptet werden darf, in so kleinem Maßstabe betrieben worden, daß dieselben nicht in maßgebender Weise die Duschschnittsbeschaffenheiten darstellen können.

Die Käse in dieser Serie wurden von Zeit zu Zeit während mehrerer Monate untersucht, und schon nach 2 Wochen unterschieden die aus gewaschenem Quark gemachten sich von den Kontroll-Cheddarkäsen. Anscheinend reiften die gewaschenen Käse langsamer und entwickelten dabei einen unangenehmen Geruch, welcher sich rasch verstärkte. In 2 Monaten war jeder Käse aus der gewaschenen Serie wertlos, indem er einen widerlichen, faulen Geschmack hatte, während die Kontrollkäse erster Qualität waren. Wo der Käse mehrere Male gewaschen worden war, waren die üblen Gerüche viel ausgesprochener, als da, wo der Quark nur einmal gewaschen wurde. Nach Verlauf eines Jahres hatten die gewaschenen Käse noch immer den unangenehmen Geruch und waren außerdem alle sehr fleckig, welcher Umstand auf das Ausbleichen der Farbe zurückzuführen war. Wie es schien, reifte der gewaschene Käse langsamer, wie durch physikalische Untersuchungen festgestellt wurde, aber eine chemische Untersuchung, die Menge löslicher Stickstoffprodukte betreffend, zeigte nur einen geringen Unterschied zwischen den gewaschenen und den Kontroll-Cheddarserien.

Es scheint also nach diesen Daten, daß die Entfernung des Zuckers sowohl auf Geschmack wie Textur des Käses deutlich einwirkt. Wie bei der Milch, aus welcher der Zucker durch Dialyse entfernt worden war, entwickelte sich auch bei dem aus gewaschenem Quark hergestellten Käse ein starker fauliger Geruch.

Serie II—IV. Mehrere andere Serien wurden später aus gewaschenem Quark hergestellt und sowohl chemisch wie biologisch des öfteren untersucht. Die erzielten Resultate waren, wie folgt:

Tabelle I.
Chemische und bakteriologische Untersuchung von Käse.

	Prozent des Totalnitrogen in lösbarer und amider Gestalt bei verschiedenem Alter					
	1 Monat		2 Monate		4 Monate	
	total löslich	Amide	total löslich	Amide	total löslich	Amide
Cheddar	19,0	4,0	25,0	7,3	30,5	18,0
Serie II gewaschen	13,0	3,0	22,2	6,7	36,5	17,0
Cheddar	15,5	4,0	26,5	6,3	37,0	14,0
Serie III gewaschen	15,8	3,9	22,2	5,0	47,1	25,0
Cheddar	18,7	4,3	25,1	9,2	35,1	20,0
Serie IV gewaschen	15,0	3,6	24,0	11,2	37,3	21,0

	Bakterien per Gramm bei verschiedenem Alter					
	$^1/_2$ Monat		1 Monat		$1^2/_3$ Monat	
	Gesamtzahl	Verflüssigende	Gesamtzahl	Verflüssigende	Gesamtzahl	Verflüssigende
Cheddar	41 248 000	dünn gesät	63 575 000	dünn gesät	6 000 000	wenige
Serie II gewaschen	209 200 000	zahlreich	78 150 000	219 000	65 400 000	100 000
Cheddar	70 960 000	sehr wenige	38 375 000	5 000	7 410 000	sehr wenige
Serie III gewaschen	79 000 000	zahlreich	95 252 000	713 000	72 900 000	zahlreich
Cheddar	Nicht bakteriologisch analysiert					
Serie IV gewaschen	69 400 000	sehr zahlreich	65 600 000	viele	29 900 000	192 000

Eine Prüfung der obigen Tabellen zeigt, daß Stickstoff in lösbarer Form während der ersten 2 Monate in den Cheddarkäsen größer ist als in dem gewaschenen. Bei zunehmendem Alter des Käses ist dieses Verhältnis umgekehrt, indem der gewaschene Käse eine wesentlich größere Menge lösbarer stickstoffhaltiger Produkte aufweist.

Bei einem Vergleich der Amide ist der Unterschied zwischen dem Cheddar und dem gewaschenen Käse weniger auffällig, obgleich dasselbe allgemeine Verhältnis wie bei der Bildung total lösbarer Produkte in den meisten Fällen beobachtet werden kann. Eine Erklärung dieses Zustandes wird leichter verstanden, wenn die bakterielle Geschichte des Käses vorliegt. Mit Bezug auf den Bakteriengehalt dieser 2 Käsetypen ist die bemerkenswerteste Eigentümlichkeit in der relativen Vermehrung der in gewaschenem Käse gefundenen verflüssigenden Bakterien zu erblicken. Dieser Typus von Keimleben im Cheddarkäse war stets schwach vertreten, ein Umstand, der frühere analytische Arbeiten auf diesem Gebiete bestätigt. Bei Kulturen, die aus gewaschenem Quark hergestellt waren, ist die auffallendste Eigentümlichkeit das Vorhandensein der verflüssigenden Bakterien, wie sie in Fig. 1 und 2 gezeigt wird, welche Gelatineplattenkulturen von normalem und „gewaschenem" Käse aufweisen.

Obgleich das Verhältnis der verflüssigenden Bakterien zu der totalen Anzahl nach Prozenten berechnet nur sehr klein ist, ist doch die Erscheinung, wie in diesen Figuren dargestellt und gezeigt wird, eine sehr auffallende. Sie scheint zweifellos darauf hinzuweisen, daß die Umgebung bei dem gewaschenen Käse eine derartige ist, daß die Entwickelung peptonisierender Formen begünstigt wird. Die Thatsache, daß die aus gewaschenem Käse hergestellten Kulturen auch eine große Anzahl der nicht verflüssigenden Art enthalten, zeigt uns, daß die säureerzeugenden und verdauenden Bakterien sich gleichzeitig an demselben Orte entwickeln können, wenn die Umgebungsverhältnisse beiden Keimen günstig sind.

Durch die bakterielle Geschichte des „gewaschenen" und normalen Käses kann jetzt gleich eine Erklärung für die Verschiedenheit gegeben werden, die in der Bildungsgeschwindigkeit der proteiden Nebenprodukte in den verschiedenen Stadien des Reifeprozesses sich zeigt. Die schnellere Peptonisierung des Caseïns im Cheddarkäse, die durch die größeren Mengen der vorhandenen lösbaren Proteide angezeigt wird, ist ohne Zweifel auf die Thatsache zurückzuführen, daß diese Käseart eine größere Menge vorhandener Enzyme (Galaktase und Pepsin) enthielt, da das Waschen des Quarks diese Gärungen bedeutend herabsetzen würde. Da jedoch die Bedingungen in dem gewaschenen Käse die Entwickelung verdauender oder verflüssigender Bakterien begünstigt, häufen sich die durch Enzyme gebildeten löslichen Nebenprodukte in dem Käse an und vermehren so die Verdauungsgeschwindigkeit.

Was die Qualität dieser Käse anbetrifft, so zeigen die erlangten Resultate ohne Ausnahme, daß die gewaschene Serie von viel geringerer Qualität war, nicht nur in Geschmack und Textur, sondern auch in der Form, da sie locker waren. Die Käse waren ranzig

und faul im Geschmack, und es ist besonders bemerkenswert, daß sie geronnen waren, und obgleich die Analyse eine größere Menge lösbarer Fäulnisprodukte aufwies, war der Käse dort nicht wirklich umgeschlagen.

In auffallendem Widerspruch mit diesen Serien standen die durch die Kontrollkäse erzielten Resultate, welche ohne Ausnahme während der ganzen Zeit gut waren.

Diese Experimente beweisen, daß die Entfernung des Zuckers die Qualität des Käses, was Geschmack, Textur und alles andere betrifft, ernstlich schädigt und daß hierdurch die Entwickelung der Bakterien in einer Weise begünstigt wird, die bei normalen Cheddarkontrollkäsen nicht vorkommt.

Diese Ergebnisse könnten von den Anhängern der Theorie, daß das Reifen des Käses auf die Entwickelung verdauender oder peptonisierender Bakterien zurückzuführen ist, als ihre Ansicht unterstützend ausgelegt werden; wenn man aber berücksichtigt, daß die Qualität der Käse, was Geschmack und Textur anbelangt, ernsthaft geschädigt worden war und in keiner Weise der Beschaffenheit eines normalen Käses entsprach, wenigstens solcher, die nach der normalen Cheddarart gemacht waren, so ist dieser Schluß unhaltbar.

C. Zusatz von Zucker zu gewaschenem Quark.

Um die Hypothese bezüglich des Einflusses, den Zucker auf den Geschmack des Käses ausübt, zu prüfen, wurden alsdann Versuche gemacht, wobei dem gewaschenen Quark Zucker zugesetzt wurde, um zu sehen, ob diese Substanz die unerwünschten Veränderungen verhinderte. Zu diesem Zwecke wurde Traubenzucker und Rohrzucker in verschiedenen Mengen verwendet und der Käse gleichzeitig mit Kontrollkäsen aus gewaschenem und normalem Quark bei 15—18° C zum Reifen gebracht.

Serie I. Bei diesen Experimenten wurde die Milch geteilt und aus der einen Hälfte ein Cheddarkäse gemacht, während der andere Teil ein oder mehrere Male gewaschen und dann geteilt wurde; den verschiedenen Teilen dieses gewaschenen Quarks wurde Rohrzucker oder Traubenzucker in dem Verhältnis von 1,25 2 und 2,5 lbs. pro 1000 lbs. Milch zugesetzt.

Nach 2 oder 3 Wochen ließ der aus gewaschenem Quark bereitete Käse an Geschmack nach, während die Zuckerserie von reinem Geschmack war, jedoch nur langsam reifte. Dieser Unterschied wurde immer deutlicher, bis nach einigen Monaten die „gewaschene Serie“ als wertlos erkannt wurde, während die „Zuckerserie“ sich bei mäßigem bis gut zu nennendem Geschmack hielt, aber doch nicht denselben Geschmack, wie die Kontroll-Cheddarkäse entwickelte.

Nach einem Jahre zeigte die gewaschene Serie eine sehr fleckige Beschaffenheit, die auf ein Bleichen der Farbe zurückzuführen war, welches sich am deutlichsten auf der Innenseite zeigte. Die Beschaffenheit der Zuckerserie war verschieden. Die mit geringeren Quantitäten von Zucker hergestellten Käse zeigten sich etwas gebleicht, aber bei weitem nicht so sehr, wie der Käse der

gewaschenen Serie von demselben Datum. Wo $2^1/_2$ Pfund Zucker gebraucht worden waren, zeigte sich die Farbe unverändert und der Geschmack war ebenso gut wie bei den Cheddarkontrollkäsen, obgleich die Zuckerserie langsamer als die Kontrollkäse zu reifen schien.

Was nach dieser langen Zeit des Reifens den Geschmack anbetrifft, so waren die Käse, denen die kleineren Quantitäten Zucker zugesetzt worden waren, etwas besser als die gewaschene Serie, sie hatten aber in manchen Fällen einen schlechten Geschmack. Wo 2—2,5 lbs. Zucker zugesetzt worden waren, zeigte sich der Geschmack gebessert, rein, aber etwas süß, kam aber in keinem Falle den Cheddarkontrollkkäsen gleich.

Hieraus ist also zu schließen, daß der Zusatz von Zucker die Entwickelung des faulen Geschmacks, welcher auftritt, wenn der Quark gewaschen wird, verhindert, und dies bestätigt die frühere Hypothese, daß der Milchzucker ein wichtiger Faktor zur Verhinderung fauliger Veränderungen in Milch oder Käse ist.

Serie II—IV. Um den Wert dieser Schlußfolgerung noch weiter zu prüfen, wurde eine neue Serie von Versuchen, welche unten detailliert sind, gemacht.

Serie II, III, IV wurden am 22., 25. und 29. April 1901 gemacht. Die gewaschenen Käse, von denen in diesen Serien berichtet wird, sind dieselben wie auf Tab. I, wo gewaschener und normaler Käse verglichen wurde. In den hier besprochenen Serien wurden variierende Quantitäten (1—3 lbs.) verschiedenen Zuckers (Traubenzucker, Rohrzucker, Milchzucker) zu Teilen des gewaschenen Quarks gemengt. In 3 Fällen der Serien III und IV wurde dem Cheddar anstatt des gewaschenen Quarks Rohrzucker zugesetzt, um den Einfluß des Zuckers bei normalem Quark zu prüfen. Diese wurden in der ersten Zeit des Reifens häufiger untersucht, und als der Käse 1, 2 und 4 Monate alt war, wurden chemische Prüfungen vorgenommen.

Chemische Untersuchungen.

Die Ergebnisse der chemischen Studien dieser verschiedenen Serien sind auf Tab. II (siehe S. 765) verzeichnet.

Bei dem Studium der vorliegenden chemischen Daten ist es nötig, die Käse derselben Serie miteinander zu vergleichen, da jeder Posten aus derselben Milch gemacht wurde. In den meisten Fällen zeigte der Käse, der aus gewaschenem Quark mit einem Zusatz von Zucker gemacht worden war, eine geringe Vermehrung von total lösbarem Stickstoff gegenüber der Menge, welche bei gewaschenem Quark auftrat, und diese Vermehrung beschränkte sich auf die oberen Zersetzungsprodukte, die für die verdauende Thätigkeit charakteristisch sind; es ist jedoch nach den vorliegenden chemischen Daten noch fraglich, ob dieser Beschaffenheit irgendwelche Bedeutung beizumessen ist. Da die Waschungen des Quarks nicht gleichmäßig oft vorgenommen worden sind, ist auch die Menge der entfernten Molken verschieden, und so können genaue Vergleiche zwischen diesen Käsen nicht angestellt werden.

Tabelle II.
Chemische Zersetzungsprodukte, wie sie sich in Käse, der aus gewaschenem Quark und solchem, dem Zucker zugesetzt wurde, bilden, in Prozent des totalen Stickstoffs in lösbarer Form und Amiden gezeigt.

Serie II	Menge des pro 1000 lbs. Milch zugesetzten Zuckers	1 Monat		2 Monate		4 Monate	
		total löslich	Amide	total löslich	Amide	total löslich	Amide
gewaschen	0 lbs.	13,0	3,0	22,2	6,7	36,5	17,0
gewaschen	1 lb. Rohrzucker	15,0	3,0	24 0	5,2	38,2	15,0
gewaschen	2 lbs. „	16,0	3,0	24,0	5,2	44,5	16,0
gewaschen	3 „ „	15,0	3,0	23,6	5,4	41,6	15,0
gewaschen	2 „ Milchzucker	16,0	3,0	23,6	5,2	40,4	15,0
gewaschen	3 „ „	15,0	3,0	22,0	5,0	40,2	15,0
Serie III							
gewaschen	0 lbs.	15,8	3,9	22,2	5,0	47,1	25,0
Cheddar	2 „ Rohrzucker	15,6	3,7	23,4	5,4	27,6	12,4
gewaschen	1 lb. Milchzucker	15,6	3,8	22,6	5,4	34,2	17,0
gewaschen	2 lbs. „	15,9	3,6	22,5	5,0	36,0	16,0
gewaschen	3 „ „	15,5	3,8	21,7	5,2	36,0	17,0
Serie IV							
gewaschen	0 lbs.	15,0	3,6	24,0	11,2	37.3	21,0
Cheddar	1 lb. Rohrzucker	17,4	4,2	20,1	7,1	29,3	15,0
Cheddar	3 lbs. „	18,8	4,0	21,0	7,0	22,5	10,0
gewaschen	1 lb. Milchzucker	15,8	3,7	24,2	7,4	36,3	18,4
gewaschen	1 „ Traubenzucker	16,0	3,7	24,3	7,4	39,0	21,0
gewaschen	2 lbs. „	15,9	3,6	23,3	7,8	39,0	20,6
gewaschen	3 „ „	16,1	3,7	23,7	8,8	38,0	19,0

In den 3 Fällen, wo dem Cheddarquark Zucker zugesetzt wurde, wiesen die chemischen Produkte deutliche Unterschiede gegenüber den Resultaten, die aus dem mit Zucker behandelten, gewaschenen Quark erzielt wurden, auf. Bei zunehmendem Alter war der total lösbare Stickstoff bedeutend geringer als bei der gewaschenen Serie mit Zuckerzusatz und die Amidprodukte verringerten sich auffallend. Eine Erklärung hierfür läßt sich vielleicht in der Annahme finden, daß die Wirksamkeit der lösbaren Enzyme (Galaktase und Pepsin) durch eine Vermehrung löslicher Körper verzögert wird, oder daß der niedere Prozentsatz von Feuchtigkeit in diesen Käsen die Verdauungsgeschwindigkeit veränderte. Während wir über diesen Punkt mit Bezug auf Zucker keine Angaben haben, ist es z. B. wohlbekannt, daß Salz bei diesen beiden Enzymen die verdauende Wirksamkeit verzögert.

Bakteriologische Untersuchungen.

Ein bakteriologisches Studium der gewaschenen und der Cheddarkäse zeigte, daß die durch Waschen des Quarks bewirkte Entfernung des Zuckers in eine deutliche Entwickelung der verflüssigenden Bakterien auslief. Es wird daher von Interesse sein, den Bakteriengehalt der aus gewaschenem Quark bereiteten Käse, denen verschiedene Zucker zugesetzt wurden, zu beachten, besonders was das relative Vorhandensein verflüssigender Organismen anbetrifft. Tabelle III zeigt die erzielten Resultate.

Tabelle III.
Zahl der verflüssigenden Bakterien pro Gramm in gewaschenem Käse mit und ohne Zusatz von Zucker.

Serie	Behandlung des Quarks	Verflüssigende Bakterien pro Gramm bei verschiedenem Alter		
		2 Wochen	1 Monat	2 Monate
II	gewaschen + 0 lbs.	sehr zahlreich	219 000	100 000
II	gewaschen + 3 „ Milchzucker	wenige	10 500	verschwunden
II	gewaschen + 3 „ Rohrzucker	zahlreich	10 000	verschwunden
III	gewaschen + 0 „	sehr zahlreich	713 000	viele
III	gewaschen + 3 „ Milchzucker	sehr wenige	8 000	verschwunden
IV	gewaschen + 0 „	sehr zahlreich		192 000
IV	gewaschen + 1 lb. „	wenige	sehr wenige	verschwunden
IV	gewaschen + 3 „ Traubenzucker	wenige	sehr wenige	verschwunden

Der Zusatz von Zucker zu dem gewaschenen Quark verändert die Beschaffenheit des Käses in solchem Maße, daß die Entwickelung verflüssigender Formen unmöglich ist. In dieser Beziehung stellt der Zusatz des Zuckers bei dem gewaschenen Quark die alte Beschaffenheit wieder her, welche er hatte, ehe diese Substanz durch Waschen entfernt wurde. Ein Vergleich der Kulturplatten, die von dem gewaschenen Quark und demjenigen, welchem Zucker wieder zugesetzt worden war, hergestellt wurden, wirkte beinahe so, wie die Platten in Fig. 1 und 2, welche die Beschaffenheit beim normalen Cheddar und gewaschenem Käse darstellen.

Qualität des Käses (Geschmack und Textur).

Bei einem Vergleich zwischen der Qualität dieser Käse, die aus gewaschenem Quark, welchem Zucker in variierenden Quantitäten zugesetzt worden war, und den gewaschenen Kontrollkäsen hergestellt waren, konnte beobachtet werden, daß die Zuckerserie, was die Textur anbetrifft, wesentlich besser war und niemals den intensiven faulen Geruch, welcher die gewaschenen Kontrollkäse begleitete, annahm. Wo nur 1 Pfund Zucker per 1000 lbs. Milch zugesetzt worden war, erwies sich die Verbesserung oft nur gering, aber doch, besonders zu Anfang, bemerkbar. Bessere Resultate wurden dort erzielt, wo größere Quantitäten Zucker (2—3 lbs.) zugefügt wurden, obgleich gesagt werden muß, daß die Käse in keinem Falle den aus derselben Milch hergestellten Cheddarkäsen an Geschmack oder Textur gleichkamen.

Der Zusatz des Zuckers machte den Quark fest, stellte eine dichtere Textur her und gab dem gewaschenen Quark das durchsichtige, gelbliche Aussehen, welches dem reifenden Cheddarkäse sonst eigen ist. In allen Fällen war die Verbesserung in der Textur größer als die des Geschmacks. Der Käse zeigte Neigung zur Klebrigkeit, die sich, der zur Verwendung kommenden Menge Zucker entsprechend, verstärkte. Wo dem gewaschenen Quark viel Zucker zugesetzt wurde, trat manchmal ein süßlicher Geschmack auf, besonders wo dem normalen Cheddarquark Zucker zugesetzt worden war.

Folgerung.

Der Schluß aus diesen 3 Serien von Experimenten bestätigt

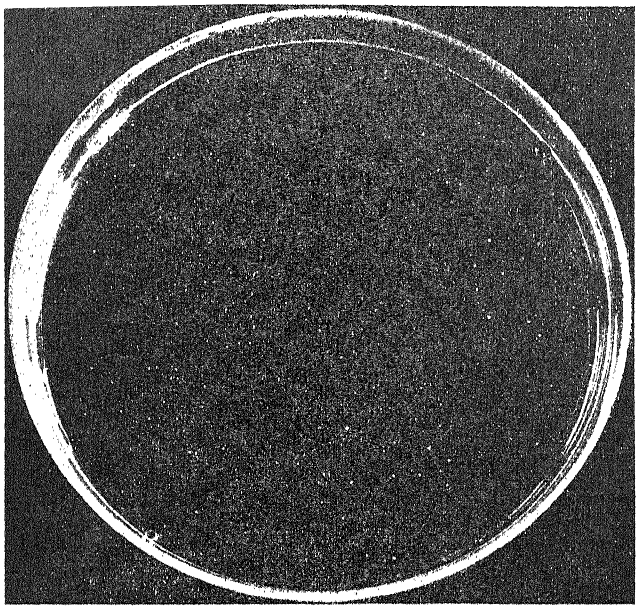


Fig. 1. Gelatine-Platten-Kultur von normalem Cheddar-Käse, starkes Ueberwiegen nichtverflüssigender Bakterien und Abwesenheit verflüssigender Formen zeigend.

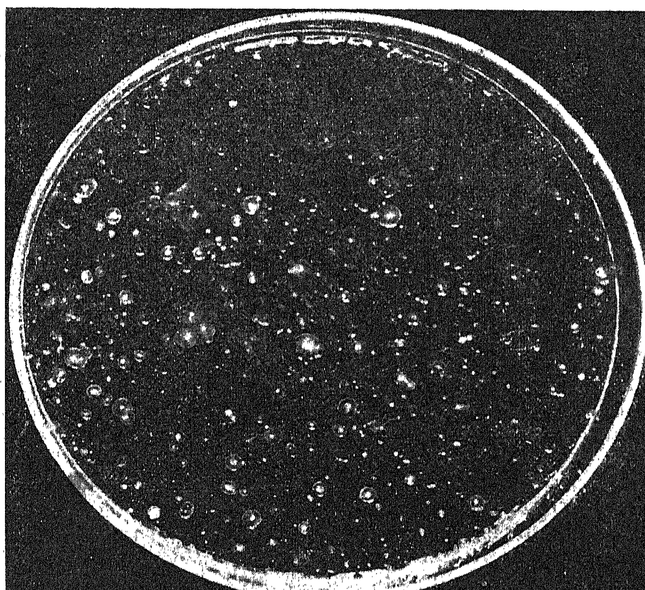


Fig. 2. Gelatine-Platten-Kultur von „gewaschenem" Käse, Entwickelung von verflüssigenden Bakterien zeigend, hervorgerufen durch die Ausschaltung des Milchzuckers. Nichtverflüssigende Bakterien sind auch vorhanden.

denjenigen, welcher als Resultat der im Jahre 1900 gethanen Arbeit zu verzeichnen ist, und weist darauf hin, daß der Zusatz von Zucker zu dem gewaschenen Quark die Beschaffenheit teilweise wieder herstellt, welche den normalen Cheddarkäse charakterisiert. Verbindet man diesen Schluß mit den Ergebnissen, welche bei einem Vergleich zwischen Cheddar- und gewaschenem Käse erzielt werden, so zeigt sich, daß die Bakterientypen, die im Käse zur Entwickelung gelangen, in innigem Zusammenhange mit dem Vorhandensein und der Menge des Zuckers, welche der Käse enthält, stehen, daß ferner die verflüssigenden, verdauenden Organismen besser gedeihen können, wenn der Zucker entfernt ist, und daß unter diesen Umständen der faule Geschmack erzeugt wird, welcher so gänzlich verschieden von dem normalen Geschmack ist, den der typische Cheddarkäse hat. Es ist möglich, daß die Entwickelung dieser verflüssigenden Formen und das Auftreten des unerwünschten Geschmackes nichts weiter als ein bloßes Zusammentreffen sind, aber wenn diese beiden Beschaffenheiten durch die Entfernung des Zuckers zu Wege gebracht sind und die normale Beschaffenheit in großem Maße durch den Zusatz von Zucker wieder hergestellt wird, muß es als höchst wahrscheinlich angenommen werden, daß die beiden Erscheinungen ursächlich verwandt sind.

Die ganze Serie von Experimenten, nicht nur mit Käse, sondern auch diejenigen mit dialysierter Milch, scheinen vollkommen übereinzustimmen und weisen darauf hin, daß die Bakterienart, welche sich in Milch und Käse entwickelt, durch die Menge des vorhandenen Zuckers in großem Maße kontrolliert wird. Diese Ergebnisse eröffnen betreffs der Entwickelung des Geschmackes ein interessantes Feld, und ein Studium dieser Probleme vom Gesichtspunkte der Umgebung aus dürfte zur Erweiterung unseres diesbezüglichen Wissens führen.

Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Aus dem Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Chrzaszcz, T., Die Mikroorganismen der Gersten- und Malzkörner. (Wochenschrift f. Brauerei. Bd. XIX. No. 40. p. 590—593.)

Wie schon lange bekannt, sind die Getreidekörner Träger zahlreicher Mikroorganismen, wie Bakterien, Hefen, Schimmelpilze, deren Menge nach F. Hofmann (Wochenschr. f. Brauerei. 1896. p. 1153) für 0,1 g Getreidegewicht zwischen 7000 und 1000000 schwankt. Der große Unterschied in der Menge ist zurückzuführen auf die verschiedenartigen Bedingungen, unter denen das Getreide gewachsen, gereift, geerntet und aufbewahrt wurde, aber auch der Umstand wird die Infektion, sowohl nach Intensität wie Qualität, ganz wesentlich beeinflussen, ob es sich um bespelzte oder unbespelzte Getreidearten handelt. In der vorliegenden Arbeit, die

Verf. fortzusetzen gedenkt, behandelt Verf. die Infektionen der bespelzten Gerste und zwar die für Verwendung der Gerste zur Malzbereitung besonders in Frage kommende innere Infektion. Diese innere Infektion kommt dadurch zu stande, daß in der Zeit, wo die Spelzen mit der Fruchthaut noch nicht verwachsen sind, während der Blütezeit, wo die Blütenorgane mit honigartiger klebriger Substanz bedeckt sind, Keime unter die Spelze gelangen. Die klebrige Substanz auf den Narben, die den Zweck hat, die Pollenkörner aufzufangen, hält eindringende Keime fest. Hauptsammelplätze dieser eingedrungenen Keime sind die Narbenreste und die Schüppchen. Da die Keime unter der Spelze assimilierbare Kohlehydrate und Stickstoffnahrung finden, so kann, falls durch Regen oder Tau für die nötige Feuchtigkeit gesorgt wird, eine starke Vermehrung der Organismen stattfinden, in nassen Jahren wird daher die innere Infektion eine beträchtlich stärkere sein als in trocknen.

Während bei Malzbereitung durch gründliche Reinigung der Gerste und nachheriges Waschen in der Weiche die äußere Infektion größtenteils beseitigt wird, sind diese Manipulationen auf die innere Infektion ohne Einfluß, bei starker innerer Infektion macht sich, um deren ungünstigen Einfluß bei der Malzbereitung zu unterdrücken, die Anwendung von Desinfektionsmitteln, wie Kalk, bei der Weiche nötig, ferner aber scheint Lüftung während der Weiche den Keimling widerstandsfähiger gegen den Angriff der Infektionskeime zu machen.

Der Zweck der vorliegenden Arbeit ist einmal der, die Arten der infizierenden Organismen festzustellen, ferner die Beziehungen dieser Infektion zur Keimfähigkeit der Gerste und zur Färbung (schwarze Spitze) der Gerste und des Malzes.

Zur Untersuchung gelangten die Schüppchen von 10 Gerstensorten verschiedener Provenienz. Von jeder Gerstensorte wurden Durchschnittsproben von je 50 Körnern entnommen, aus denen unter den nötigen Vorsichtsmaßregeln die Schüppchen isoliert wurden. Von diesen 50 Schüppchen wurden 40 zu Adhäsionskulturen verwendet und zwar 20 in gehopfter Würze, 20 in ungehopfter Würze, zu der 0,2-proz. Weinsäure zugesetzt waren, um die größte Menge der Bakterien in ihrer Entwickelung zu hemmen. Die verbleibenden 10 Schüppchen wurden, um auf gärende Hefen zu prüfen, in Fläschchen mit gehopfter Würze mit 0,5-proz. Weinsäurezusatz gebracht.

Die Ergebnisse der Untersuchungen waren folgende:

Die Menge der unter der Spelze auftretenden Organismen ist der Zahl und der Mannigfaltigkeit nach eine sehr verschiedene, während z. B. eine Gerste nur 4 verschiedene Arten von Organismen beherbergte, fanden sich auf einer anderen 19 verschiedene Arten. Unter den beobachteten Organismen traten auf

1) Bakterien. Es wurden beobachtet Stäbchen, Kokken, zwei Sarcina-Arten, Pediokokken. Ziemlich häufig traten Bakterien auf, die identisch zu sein scheinen mit den von W. Winkler

als B. mesentericus aureus bezeichneten, zur Gruppe der Kartoffelbakterien gehörigen Bakterien.

2) Hefen. Von stark gärenden Hefen fanden sich Sacch. ellipsoideus, einmal auch eine Pastorianus-Art, von anderen Anomalus, Apiculatus, Mycoderma und Torula. Diese letztere tritt in allen Abarten auf, und zwar kommen, wenn man nicht die Form und Größenverhältnisse berücksichtigen will, rote, rosa, graue, weiße Arten vor, endlich solche, deren Membran stark verschleimt ist.

3) Schimmelpilze. Diese kommen sehr zahlreich vor, z. B. Aspergillen, Penicillien, Alternarien, Sphaerella Tulasnei u. s. w. Auffallend ist das öftere Auftreten von eigenartig aussehenden Schimmelpilzen, die nicht zur Fruktifikation zu bringen waren und die vielleicht neue Arten darstellen.

4) Infusorien.

Die Organismen der Malzschüppchen waren weder nach Zahl noch Arten so üppig wie die der Gerstenschüppchen, einmal wahrscheinlich, weil zu obigen Untersuchungen meist geringere Gerstensorten verwendet wurden, während auf Brauereimalz meist nur beste Gerste verarbeitet wird, so daß die Infektion von Haus aus kleiner war, zweitens sind aber sicher eine ganze Anzahl von Organismen durch die hohen Abdarrtemperaturen abgetötet worden. Infusorien fehlten bei Malzschüppchen vollständig.

Um den Einfluß der Infektion auf die Keimung festzustellen, entnahm Verf. den obigen 10 Gerstensorten je 300 Körner, die er nach möglichster Beseitigung der äußeren Infektion in sterilem Keimapparat bei Zimmertemperatur keimen ließ. Das Resultat war im großen und ganzen das erwartete, die beste Keimkraft zeigte die am wenigsten infizierte Gerste, die meisten ungekeimten Körner wies die stärkst infizierte Gerste auf. Die mikroskopische Untersuchung der nicht gekeimten Körner ergab, daß ein Teil derselben sehr stark infiziert war, so daß es nahe liegt, das Nichtkeimen als Folge der Infektion anzusehen, ein anderer Teil dagegen zeigte so schwache Vegetation von Organismen, daß die Nichtkeimung bei diesen Körnern auf andere Ursachen zurückgeführt werden muß. Schließlich sucht Verf. die Beziehungen aufzuklären, welche bestehen zwischen Färbung der Gerstenkörner, Stärke und Art der Infektion dieser Körner und ihrer Keimfähigkeit. Dabei zeigte sich, daß die Färbung der Körner nicht immer durch Infektion bedingt ist, sondern bisweilen durch Farbstoff, der in den Zellwänden eingelagert ist. In anderen Fällen zeigten die gefärbten Körner beim Keimversuch starke Schimmelvegetation, gleichzeitig aber auch starke Infektion durch andere Organismen. Von diesen stark infizierten Körnern erwies sich nur ungefähr die Hälfte keimfähig, bei diesen aber zeigte sich zum Teil der Graskeim kräftiger entwickelt als bei normalen gesunden Körnern. Bei dem übrigen Teil der keimfähigen Körner begann zwar der Keimling sich zu entwickeln, ging aber durch Fäulnis zu Grunde. Alle dieser letzteren Gruppe angehörenden Körner zeigen eine enorm große Entwickelung von Mikroorganismen. Entgegen früheren Angaben, die für die

schwarze Färbung der Getreidekörner in erster Linie starke Infektion durch Sphaerella Tulasnei verantwortlich machen, konnte Verf. zeigen, daß bei den gefärbten Körnern von Schimmelpilzen in erster Linie Septosporium und Alternaria auftreten. Mohr (Berlin).

Referate.

International **Catalogue** of Scientific Literature. First Annual Issue. M. Botany. Part I. London 1902. Preis 21 sh.

Die mit dem vorliegenden Halbbande beginnende, groß angelegte Bibliographie der gesamten Naturwissenschaften verdankt ihre Begründung der Anregung der Royal Society in London. Fast alle Kulturstaaten unterstützen das Unternehmen dadurch, daß sie Regionalbureaus ins Leben riefen, welche die Litteratur des betreffenden Landes zu sammeln und dem Centralbureau in London abzuliefern haben. Die Herausgabe der einzelnen Jahrgänge erfolgt von London aus. Wenn bisher von der Botanik des Jahres 1901 nur ein Teil bearbeitet werden konnte, so findet dies seine Erklärung darin, daß die Thätigkeit der meisten Regionalbureaus erst in der zweiten Hälfte von 1901 beginnen konnte; in Zukunft wird das Erscheinen der Bände schneller erfolgen können.

Schon bei flüchtiger Durchsicht des Bandes erkennt man die außerordentliche Sorgfalt, die auf diese bibliographische Zusammenstellung und Verarbeitung verwendet worden ist. Die Einteilung des Stoffes ist sehr zweckmäßig und erleichtert die Auffindung einer Arbeit ungemein. In vieler Beziehung ergänzt der Katalog Just's Jahresbericht, namentlich fällt dies für die angewandte Botanik sofort ins Auge. Besonderen Vorteil bei der Benutzung werden diejenigen Disciplinen der Botanik haben, deren Litteratur in vielen Zeitschriften zerstreut sich vorfindet. Der Bakteriologie und Phytopathologie wird die Zusammenstellung namentlich Vorteile bringen, denn in beiden Fächern gehört das Aufsuchen der einschlägigen Arbeiten nicht zu den Annehmlichkeiten.

Die Einrichtung des Buches entspricht der eines Bibliothekskataloges. Nach der Aufzählung der Arbeiten werden sie nach dem Inhalte gruppiert. Dies geschieht nach einem ganz bestimmten Schema, das in der Einleitung näher auseinandergesetzt wird. Man ist dadurch in den Stand gesetzt, beim Aufschlagen eines bestimmten Stichwortes die dasselbe behandelnden Arbeiten beisammen zu finden. Man erspart also für die Zukunft viel Mühe, wenn man sich beim Aufsuchen der Litteratur des Kataloges bedient.

Gegen diese außerordentlichen Vorzüge fallen einige Ausstellungen, die zu machen sind, kaum ins Gewicht. Es will Ref. bedünken, als ob die Auswahl der Satzarten keine besonders günstige wäre. Die einzelnen Abteilungen heben sich dadurch im Drucke zu wenig ab, was die Benutzung in Verbindung mit den kleinen Drucklettern nicht gerade erleichtert. Wenn nun schon das kleine Katalogformat für das Buch gewählt werden mußte, so hätte man

den Satz durchlaufend nehmen sollen und nicht zweikolonnig; dann wäre etwas mehr Papier verbraucht worden, aber die angeführten Uebelstände mit den Ueberschriften etc. wären weggefallen.

Namentlich in den allgemeinen Abschnitten macht sich noch einige Unsicherheit in der Unterbringung der Titel geltend. Im Laufe der Zeit wird sich wohl ein immer festerer und allen Ländern gemeinsamer Usus in der Beurteilung des Inhaltes herausbilden.

Hoffentlich findet das Werk recht weite Verbreitung, es verdient sie nach jeder Richtung hin. Lindau (Berlin).

van Iterson, G., jr., Accumulation experiments with denitrifying bacteria. Communicated by M. W. Beijerinck. (Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam; Proceedings of the Meeting of Saturday June 28. 1902.)

Die vorliegende Arbeit wird jeder, der sich mit den denitrifizierenden Bakterien beschäftigt hat, mit großem Interesse lesen. Der Verf. benutzte zu seinen Versuchen absichtlich nicht bereits isolierte und in dem Laboratorium gezüchtete Arten wegen der durch die künstliche Kultur eventuell eingetretenen Veränderungen und der hiermit verbundenen Schwierigkeit der Identifikation, sondern unternahm es mit gutem Erfolg, durch die eigens hierfür gewählte „Akkumulationsmethode" aus der Natur die betreffenden Arten zu isolieren. Das Wesen dieser einfachen Methode bestand darin, daß der Isolierung auf festem Nährboden die Anhäufung (Akkumulation) der betreffenden denitrifizierenden Art in flüssigem Nährsubstrat (Wasser, KNO_3, K_2HPO_4, Calcium tartaric. oder citric.) unter gänzlichem oder teilweisem Luftabschluß vorausgeschickt wurde. Auf diese Weise erhielt er, abgesehen von einigen nicht konstanten Arten, mit Sicherheit Bacillus Stutzeri Lehm. et Neum. und B. denitrofluorescens s. n. und B. vulpinus s. n., für welche die angewandte Akkumulationsmethode im einzelnen beschrieben wird und von welchen in 1 g Gartenerde etwa 2000 Keime und in 1 g Kanalwasser etwa 100 Keime gefunden wurden.

Bezüglich des theoretischen Vorgangs, nach welchem sich die Denitrifikation abspielt, bestätigt der Verf. die vom Referenten ausgesprochene Ansicht, daß Nitrate immer erst in Nitrite umgewandelt werden, bevor die Denitrifikation eintritt. Er hebt dabei hervor, daß die von Sewerin, Künnemann und ihm selbst gemachten Befunde, welche bei vielen derartigen Versuchen keine Nitritbildung nachweisen konnten, keinen Widerspruch zu jener Behauptung bilden, weil dann eben das entstandene Nitrit sogleich durch Denitrifikation zerstört worden ist. Nahm er in solchem Falle anstatt der 0,1-proz. Nitratlösung eine von 4—5 Proz., so wurde stets eine starke Nitritreaktion erhalten. Hierdurch und durch die Mitteilung des Verf.'s, daß es ihm gelungen ist, ein Bakterium zu isolieren, welches ähnlich wie das von Burri und Stutzer isolierte B. denitrificaus Lehm. et Neum. wohl

Nitrite, nicht aber Nitrate zerstört, wird die Auffassung des Ref. bestätigt, daß die Denitrifikation eben nur ein mit Nitriten sich abspielender Prozeß ist und daß die Zerstörung von Nitraten sich aus zwei verschiedenen Vorgängen zusammensetzt.

Bezüglich des Einflusses des atmosphörischen Sauerstoffes weist der Verf. ebenfalls in Uebereinstimmung mit früheren Versuchen nach, daß durch die Anwesenheit der Nitrate im Nährsubstrat den sonst aëroben denitrifizierenden Bakterien das Wachstum auch bei vollständig oder teilweise behindertem Luftzutritt ermöglicht wird. B. vulpinus aber wuchs bei vollständigem Luftabschluß in der Nitratlösung nicht, woraus der Verf. den Schluß zieht, daß dieses Bakterium bedeutender Sauerstoffmengen bedarf. Das Verhalten der beschriebenen Bakterien wird auch noch mit Hilfe der Beijerinck'schen „Atmungsfiguren" geprüft.

Als interessanter Versuch sei schließlich noch ein mit B. Stutzeri angestellter hervorgehoben. Wurde in einem Erlenmeyer-Kölbchen eine dünne Schicht 0,05 Proz. K_2HPO_4 enthaltendes Wasser mit Gartenerde vermischt, so war (bei 25°) nach 2 Wochen Nitratbildung nachzuweisen. Wurde nun diese Flüssigkeit in eine Flasche gegossen, so daß sie hierdurch vollständig gefüllt war, und nun mit B. Stutzeri geimpft, welches aus der gleichen Gartenerde durch die Akkumulationsmethode unter Luftabschluß isoliert worden war, so erfolgte Gasbildung, und das Nitrat verschwand. Verf. faßt seine Versuche wie folgt zusammen.

1) Das Hauptprinzip meiner Akkumulationsversuche war, zum Teil oder gänzlich den Luftzutritt zu verhindern. Vermittelst dieser gelang es mir, bei Kultur in Lösungen von organischen Salzen und Nitraten lediglich durch wiederholte Uebertragungen in die gleiche Flüssigkeit manche denitrifizierenden Bakterien in ganz oder fast vollkommener Reinkultur zu erhalten. Von diesen Versuchen gaben drei immer konstante Resultate und lieferten je nachdem B. Stutzeri Lehm. et Neum., B. denitrofluorescens n. pr. und B. vulpinus n. pr.

2) B. Stutzeri verdient Aufmerksamkeit wegen der eigenartigen Struktur seiner Kolonieen (cf. Abbildungen).

3) B. denitrofluorescens ist das erste Beispiel eines denitrifizierenden, nicht verflüssigenden fluorescierenden Bakteriums.

4) B. vulpinus ist ein farbstoffbildendes Bakterium, welches Pigment nur bei Wachstum im Licht bildet.

5) B. Stutzeri und B. vulpinus verhalten sich gegenüber freiem Sauerstoff wie aërobe Spirillen, B. denitrofluorescens verhält sich wie ein gewöhnliches aërobes Bakterium.

6) Ebenso wie im Boden und Dünger, in welchen es auch von anderen Autoren gefunden worden ist, habe ich die allgemeine Verbreitung der denitrifizierenden Bakterien im Kanalwasser festgestellt.

7) Die denitrifizierenden Bakterien können auch mit den geringsten Mengen von verschiedenen organischen Substanzen bestimmte Mengen von Nitraten zerstören unter Entwickelung von freiem Stickstoff.

8) In einem und demselben Kulturmedium, wo bei Luftzutritt Nitrifikation erfolgt ist, kann bei Luftabschluß Denitrifikation stattfinden, dies hat auch Geltung hinsichtlich des Bodens.

Weissenberg (Tichau O./S.).

Bokorny, Th., Notizen über physiologische und Säureproteolyse. (Chemikerzeitung. 1902. 5. Februar.)

Ueber die physiologische, d. i. durch Enzyme hervorgerufene Proteolyse, sei hier nur hervorgehoben, daß Verf. mit Schimmel an verschiedenen Eiweißstoffen und eiweißhaltigen Materialien peptische Verdauungsprodukte erhielt. Niemals aber war die Verdauung so stark wie mit Pepsin.

Ueber die Säureproteolyse stellte Verf. unter anderem folgende Versuche an: a) 20 g frisches Ochsenfleisch wurden mit 5-proz. Salzsäure 7 Wochen lang bei Sommertemperatur stehen gelassen. Die Flüssigkeit zeigte dann nach kurzem Aufkochen, Neutralisieren, Filtrieren beträchtlichen Gehalt an Peptonisierungsprodukten. Wurde der Versuch mit nur 1-proz. Salzsäure angestellt, so ergab sich nach 7 Wochen in der Flüssigkeit nur die Anwesenheit von Fleischextraktbestandteilen, kaum etwas von peptonischen Stoffen. b) 20 g Rindfleisch wurden 9 Wochen lang mit 2-proz. Schwefelsäure bei Sommertemperatur stehen gelassen. Es trat merkliche Peptonisierung ein; auch bei Anwendung 1-proz. Schwefelsäure trat Peptonisierung ein. Da schon nach 4- bis 5-tägigem Stehen in der Regel Schimmel sich einstellt, selbst 2-proz. Säure, so war es nötig, ein Schimmel abhaltendes Mittel zuzusetzen; Schimmel würde ja für sich schon peptonisierend wirken. c) 107 g Fleischpulver wurden mit 300 ccm einer 4-proz. Schwefelsäure übergossen und 4 Wochen lang (im Sommer) stehen gelassen. Beim Neutralisieren, Filtrieren, Eindampfen der Flüssigkeit ergab sich eine ziemlich beträchtliche Menge einer peptonischen Masse, ca. 10 g. Beim Kochen mit verdünnten Säuren erhält man schon in kurzer Zeit beträchtliche Peptonisierung: 100 g Fleischfuttermehl wurden mit 400 ccm einer 1-proz. Schwefelsäure versetzt uud 9 Stunden lang gekocht. Beim Neutralisieren, Filtrieren, Eindampfen ergaben sich 17 g Peptonmasse. Sowohl beim Stehen in der Kälte wie beim Kochen liefert die Behandlung der Eiweißstoffe mit verdünnten Säuren in der Regel Peptone neben Albumose; erstere können dem Produkt einen bitteren Geschmack verleihen.

Ueber die Einwirkung kochender Säuren auf Eiweißstoffe sind sehr viele Beobachtungen gemacht worden. H. Hlasiwetz und J. Habermann haben verschiedene Eiweißkörper (Caseïn, Albumin, Legumin und Pflanzeneiweiß) durch Lösen in Salzsäure unter Zusatz von Zinnchlorür und darauf folgendes 3-tägiges Kochen am Rückflußkühler zersetzt. Es bildeten sich als Endprodukte Glutaminsäure, Asparaginsäure, Leucin, Tyrosin und Ammoniak [1]). Von Ritthausen ist die Glutaminsäure schon früher unter den Zersetzungsprodukten des Konglutins (aus Lupinensamen) ge-

1) Lieb. Ann. Chem. 1873. p. 169.

funden worden[1]). E. Fischer hat aus den unkrystallisierbaren Rückständen der oben erwähnten Eiweißzersetzung durch Salzsäure zwei neue Basen, Lysin und Lysatinin, isoliert. Auch geringe Mengen Phenylamidopropionsäure wurden gefunden. Die Spaltung des Eiweißes bei 3-tägigem Kochen mit starker Salzsäure ist eine so weitgehende, daß sie mit der peptischen Eiweißverdauung nicht verglichen werden kann; sie gleicht vielmehr der tryptischen Eiweißzersetzung. Um eine der peptischen ähnliche Eiweißspaltung zu bekommen, muß man mit verdünnten Säuren kürzere Zeit kochen: Es wurde Hühnereiweiß gereinigt durch Auflösen in Wasser und Kochen dieser Lösung unter Zusatz von 2 Tropfen Schwefelsäure. Das Koagulum wurde gewaschen und zwischen Fließpapier getrocknet. Je 2 g davon wurden nun mit 4-proz. Schwefelsäure, Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Oxalsäure, Essigsäure 2 Stunden lang gekocht. Die chemische Einwirkung schien zuerst bei Salzsäure, dann Bromwasserstoffsäure, hierauf bei Schwefelsäure, dann bei Oxalsäure einzutreten. Essigsäure schien sich ganz inaktiv zu verhalten, trotzdem löste sich etwas Eiweiß auf. In den ersteren 4 Fällen trat teilweise Lösung der Substanz und feine Verteilung des Ungelösten ein; ein Teil des Albumins leistete der 4-proz. Säure Widerstand, löste sich nicht. Die Lösung in Salzsäure war etwas bräunlich gefärbt und filtrierte rasch, die in Bromwasserstoffsäure zeigte ganz schwache Färbung und filtrierte ebenfalls gut. Die Lösung in Schwefelsäure filtrierte weniger gut, sehr langsam die oxalsaure Lösung; bei letzterer blieb ein sehr starker Rückstand auf dem Filter, bei Schwefelsäure auch ein ziemlich starker, bei Bromwasserstoff und Salzsäure ein viel schwächerer Rückstand. Die sauren Lösungen wurden neutralisiert, dann (nach dem Filtrieren) mit Zinkvitriolkrystallen im Ueberschuß versetzt und 24 Stunden lang stehen gelassen. Es bildete sich in allen Fällen ein Albumoseniederschlag. Im Filtrat hiervon rief Phosphorwolframsäure einen Niederschlag hervor, ein Zeichen, daß auch Pepton gebildet worden war (nur der Oxalsäureversuch machte hiervon eine Ausnahme). Autoreferat.

Bokorny, Th., Einiges über das malzzuckerspaltende Enzym der Hefe. (Allg. Brauer- u. Hopfenztg. 1902. 28. Juli.)

Die Maltase oder Glukase ist gegen Austrocknen empfindlich, wenn auch ein völliger Verlust der malzzuckerspaltenden Kraft beim vorsichtigen Austrocknen der Hefe (unter Anwendung gewöhnlicher Temperatur!) nicht eintritt.

13,3 g trockene Preßhefe vermochten binnen 17 Stunden nur 2,5 g Alkohol aus 25 g Maltose zu erzeugen, was auf eine geringe malzzuckerspaltende Kraft der trockenen Hefe schließen läßt. Die Vergärung der entstandenen Glykose tritt ja auch mit trockener Hefe rasch und leicht ein.

Mit frischer Hefe wurde fast die ganze Maltosemenge binnen 17 Stunden vergoren.

1) Journ. prakt. Chem. 1866. p. 99.

Auch gegen Alkohol ist die Maltase empfindlich.

Schon durch Einwirkung von 5-proz. Alkohol, noch etwas mehr durch 10-proz. und sehr merklich durch 20-proz. Alkohol wird binnen 2 Tagen die malzzuckerspaltende Kraft der Hefe abgeschwächt, wie die angestellten Versuche ergaben.

Nach 4-wöchentlicher Einwirkung von 20-proz. oder auch nur 10-proz. Alkohol hatte die Hefe ihre Gärkraft gegen Maltose verloren, was auf die Vernichtung des malzzuckerspaltenden Enzyms zurückzuführen ist. Denn Rohrzucker wird durch solche Hefe noch vergoren (wenn auch langsamer als durch frische Hefe). Das Invertin der Hefe ist ja gegen Alkohol sehr unempfindlich.

„Gegen Alkohol ist also die Hefenmaltase sehr empfindlich. Auch sonst ist sie gegen schädliche Einflüsse empfindlicher als andere Enzyme.“

Es folgt eine tabellarische Vergleichung der Empfindlichkeit beider Enzyme. Autorreferat.

Marchal, E., De la spécialisation du parasitisme chez l'Erysiphe graminis. (C. R. Acad. Sc. Paris. T. CXXXV. 1902. p. 210.)

Bei Infektionsversuchen mit den Conidien von Erysiphe konnte Verf. feststellen, daß die auf Gramineen verschiedener Art schmarotzenden Pilze in weitgehender Weise sich an die Qualität ihrer Wirtspflanzen anpassen. Verf. unterscheidet demnach verschiedene Spezialformen innerhalb der Art E. graminis.

E. graminis f. sp. Tritici ließ sich mit Erfolg auf Triticum vulgare, Spelta, polonicum, turgidum übertragen — aber nicht auf Tr. durum, monococcum, dicoccum,

E. graminis f. sp. Hordei auf Hordeum hexastichon, vulgare, bifurcatum, nudum, jubatum, murinum — nicht auf H. maritimum, secalinum, bulbosum,

E. graminis f. sp. Secalis auf Secale cereale, anatolicum,

E. graminis f. sp. Avenae auf Avena sativa, orientalis, fatua und auf Arrhenaterum elatius,

E. graminis f. sp. Poae auf verschiedenen Poa-Arten,

E. graminis f. sp. Agropyri auf verschiedenen Agropyrum-Arten,

E. graminis f. sp. Bromi auf verschiedenen Bromus-Arten, besonders Br. mollis und Br. sterilis.

Küster (Halle).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Emmerling, O., Aminosäuren als Nährstoffe für niedere Pflanzen. (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. XXXV. 1902. Heft 12. p. 2289.)

Die Versuche, ob Aminosäuren als Nährstoffe für niedere Pflanzen geeignet sind, wurden so angestellt, daß eine sehr kleine Quantität der Aminosäure in einem großen Tropfen

mit anorganischen, stickstofffreien Nährsalzen versehenen Wassers in der Höhlung eines ausgeschliffenen Objektträgers gelöst, mit einigen Sporen der Pilze versetzt und mit Deckglas bedeckt wurde. Die in einer feuchten Kammer befindlichen Objekte wurden 14 Tage lang jeden dritten Tag mikroskopisch untersucht. In der folgenden Tabelle sind die mit verschiedenen Pilzen erhaltenen Resultate zusammengestellt; es bedeutet: 0 kein Wachstum, † spärliche, †† ziemlich starke und ††† sehr starke Entwickelung.

	Glykokoll	Serin	Isoserin	Alanin	α-Amino-buttersäure	β-Amino-buttersäure	γ-Amino-buttersäure	α-Amino-n-Valeriansäure	α-Aminomethyl-äthylessigsäure	β-Aminoiso-valeriansäure	i-Leucin	Asparagin-säure	Glutamin-säure	Phenylalanin	Tyrosin	α-Pyrrolidin-karbonsäure
Penicillium glaucum	†††	††	0	††	†	0	†††	†	†	0	†	†††	†††	†††	†	†††
Aspergillus niger	†	†††	0	†††	0	0	†††	†	†	0	0	†††	†††	†	0	†††
Aspergillus clavatus	†	†††	0	†††	0	0	†††	0	0	0	0	†††	†††	0	0	†
Aspergillus oryzae	†††	†††	0	†††	†	0	†††	†	0	0	0	†††	†††	†	†	†††
Mucor mucedo	†	†††	0	0	0	0	†††	0	0	0	0	†††	†††	0	0	0

Wesenberg (Elberfeld).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Smith, J. B., Modern methods of studying and dealing with horticultural insect pests. (Rep. New Jersey hortic. Soc. 8. 1902. 11 p.)

Wenn wir ein schädliches Insekt erfolgreich bekämpfen wollen, hat sich unser Studium auf folgende Punkte zu richten: 1) Die gesamte Lebensgeschichte desselben klarzulegen. Früher, in Europa heute noch, strebte der Kampf gegen die Apfelmade nur danach, die nächstjährige Ernte zu sichern; seit man weiß, daß die junge Raupe 1—2 Tage außen am Apfel frißt, kann man durch rechtzeitiges Spritzen mit Arsenmitteln schon die diesjährige Ernte retten. — 2) Ausdehnung und Art des Schadens festzustellen. — 3) Den schwachen Punkt in dem Leben des Insektes ausfindig zu machen, in dem es am sichersten zu bekämpfen ist (s. oben: Apfelmade). — 4) Die Beziehungen zwischen Insekt und Pflanze, bezw. ihrer Anbauart zu untersuchen. Durch Verschieben oder Beschleunigen der Aussaat, durch Unterlassen des Anbaues für 1 Jahr kann man viele Pflanzen den Schäden mehr oder weniger entziehen. In jedem Obstgarten finden sich einzelne Bäume, die, unabhängig von der Sorte, immun z. B. gegen die San José-Laus sind; sie sind zur Vermehrung zu benutzen. — 5) Wenn Insekticide nötig, das wirksamste zu suchen. Auch theoretisch unwirksam erscheinende Mittel sind zu erproben. Smith hielt es z. B. für unmöglich, rohes Petroleum anwenden zu können; als er es dennoch versuchte, hatte er sehr gute Ergebnisse. Doch wirken alle Mittel lokal verschieden. Rohes Petroleum z. B. schadet in den Südstaaten vielen Obstbäumen; in den meisten Nordstaaten beeinflußt

es sie nicht; in Idaho wirkt es als Anreizmittel auf sie. — 6) Die Parasiten des Insektes zu studieren. Nicht jeder Parasit ist praktisch wirksam; auch verhalten sie sich lokal verschieden. Vedalia cardinalis beseitigt in Kalifornien Icerya Purchasi, zum Teil auch die San José-Laus; in New Jersey halfen alle australischen Coccinelliden nichts. Clerus formicarius, in Europa ein gefährlicher Feind der Scolytiden, erlag in West-Virginia einem einzigen Froste[1]). — 7) Desgleichen die Pilzkrankheiten. Eigentlich nur Phytonomus punctatus und Heuschrecken sind wirksam durch Pilze zu bekämpfen. In Kalifornien erliegt die San José-Laus ihrem Pilze; in New Jersey hat dieser gar keine Ergebnisse geliefert. — Der kleine Vortrag ist ungemein lehrreich, insbesondere auch für deutsche Verhältnisse, da er namentlich klar zeigt, was bei uns nicht geschieht. L. Reh (Hamburg-Freihafen).

Smith, J. B., Treatment for San José scale in orchard and nursery. (Commonwealth of Pennsylvania. Dept. Agric. Bull. 90. 8°. 33 pp. 7 figs. [ptm. pls.]).

Der Verf., einer der erfahrensten Kenner der San José-Laus, giebt eine sehr dankenswerte Zusammenfassung des Bekannten und berichtet namentlich ausführlich über seine Erfahrungen mit der Bekämpfung. In Philadelphia beginnt die Vermehrung der San José-Laus etwa am 10. Juni und dauert bis in den November hinein. Ein Frühjahrspaar kann theoretisch in dieser Zeit bis 1000 Mill. Nachkommen erzeugen. Die Ueberwinterung erfolgt nur im zweiten Stadium unter dem schwarzen Schilde[2]); alle anderen Stadien sterben im Winter ab. Von den Obstbäumen leiden Pfirsiche am meisten; sie werden gewöhnlich im 3. Jahre nach der Infektion getötet. Danach kommen Pflaumen, von denen aber einige Sorten und Individuen widerstandsfähiger sind. Auch Aepfel leiden sehr, besonders der Ben Davisapfel. Birnen werden in wechselndem Grade befallen; die Keifferbirne ist fast ganz frei; auch die asiatischen Sorten leiden wenig; einige Individuen derselben sind immun. Buschobst wird alles befallen, Johannisbeere am meisten, Stachelbeere am wenigsten. Him- und Brombeeren werden zwar infiziert, leiden aber nicht sehr, ebenso Reben, der splitternden Rinde wegen. Heckensträucher werden fast alle befallen, am meisten die japanische Quitte, dann Maclura aurantiaca. Auf jungen europäischen Ulmen wurden massenhaft Läuse gefunden, auf amerikanischen wenig. Ahorn und Pappel werden selten befallen, Weiden manchmal so stark, daß sie absterben. Auch Hickary- und Walnuß beherbergen oft San José-Läuse, besonders letztere. Nadelhölzer und Liguster sind ganz immun, annähernd

1) Diese Thatsache, daß ein bei uns bis nach Lappland, Finland, Sibirien hinaufgehender Käfer einem einzigen Frost in W.-Virginia — größtenteils der Merriam'schen Südzone angehörig — erlag, erscheint mir besonders interessant als Illustration zu der weit verbreiteten Ansicht, daß von Amerika nach Europa keine Insekten verschleppt werden könnten, weil drüben das Klima zu günstig, bei uns zu ungünstig sei (Reh).

2) Diese Bemerkung ist nicht ganz richtig. Unter dem schwarzen Schilde kommt nur das erste Stadium vor. Beim zweiten Stadium ist das schwarze Schild schon von dem Anfange des definitiven Schildes umgeben.

auch Kirsche und Quitte. Befallene Bäume gehen oft anscheinend gesund in den Winter und schlagen im Frühjahre gut aus, um aber im Frühsommer beim ersten ungünstigen Wetter einzugehen. Die Ausbreitung erfolgt besonders durch Spatzen, aber auch durch Coccinellen, durch Wind und durch Gartenarbeiter, wofür S. ein drastisches Beispiel anführt. Heftige Regenschauer waschen Larven in Massen ab, naßkaltes Wetter und eine unbekannte Krankheit können viele Läuse töten. Alle diese Einflüsse genügen in den atlantischen Staaten ebensowenig wie die natürlichen Feinde, um die San José-Laus in Schranken zu halten. Hier muß Bekämpfung durch Menschen einsetzen. Für die Sommerbehandlung (10. Juni bis 15. Nov.) ist im Osten Thranseife am besten; auch Petroleum ist sehr wirksam, aber mit Vorsicht anzuwenden. In der Winterbehandlung wirkt die Kalk-Salz-Schwefel-Wäsche am besten in den Weststaaten, Thranseife in den Oststaaten. Auch Petroleum, roh oder gereinigt, unverdünnt, in Mischung mit Wasser oder in Emulsion mit Seife, ist vorzüglich, doch giebt es Gegenden und Klimate, in denen es den Bäumen verderblich wird. Die Winterbehandlung sollte möglichst spät im Frühjahre, nicht vor Januar oder bis in den März hinein vorgenommen werden, da die schlafende Rinde zu viel von den Flüssigkeiten absorbiert, so daß die Bäume leicht leiden; ist schon Saft in der Rinde, wird weniger aufgenommen. Daher sind auch die verschiedenen Obstsorten, je nach ihrer Rinde, verschieden empfindlich. Jede Baumschule sollte eine eigene Räucherkammer zur Behandlung mit Blausäure haben. — Alle diese Methoden werden natürlich von Smith ausführlich erläutert.

L. Reh (Hamburg).

Falke, Ueber in Eckendorf angestellte Versuche zur Gewinnung von brandfreiem Saatgut. (Deutsche landwirtschaftliche Presse. 1902. p. 575 und 584.)

Bei diesen Versuchen handelte es sich um eine Desinfektion des Saatgutes mittelst Formalin in Verbindung mit einem Trocknungsprozeß, um in möglichst kurzer Zeit desinfiziertes, d. h. von keimfähigen Brandsporen freies und zugleich versandfähiges Saatgetreide erhalten zu können. Die Versuche beziehen sich einstweilen auf Gerste und Hafer und wird über die Verwendbarkeit des Verfahrens bei den übrigen Getreidearten und einigen anderen Sämereien ein weiterer Bericht in Aussicht gestellt. Nachdem Vorversuche den notwendigen und nicht schädlich wirkenden Konzentrationsgrad der Formalinlösung auf durch Flugbrand infizierten Weizen klargelegt hatten und ferner, in Bestätigung der Versuche Hiltner's, erwiesen worden war, daß ein Trocknen in Verbindung mit der Desinfektion nicht schädlich wirkt, wurde an die Errichtung eines Trocknungsverfahrens in größerem Maßstabe gegangen. Es wurde von der Braunschweigisch-Hannoverschen Maschinenfabrik in Alefeld ein Trockenapparat konstruiert, durch welchen es gelang, eine starke Konzentration der Formalinlösung beizubehalten, ohne daß durch den Trocknungsprozeß die Keimfähigkeit erheblich geschädigt worden wäre. Das Getreide wird zuerst in geeigneter Weise durch eine Vorrichtung mit der For-

malinlösung gründlich benetzt, so daß keine Stelle eines Kornes unbefeuchtet bleibt, und gelangt sodann in den Trockenapparat. Bei der Konstruktion des Apparates wurde auch darauf Rücksicht genommen, daß für eine sorgfältige Reinigung und Auslese des Saatgutes gesorgt ist. Ferner ist es mit Hilfe der besonderen Einrichtung des Trockenapparates möglich geworden, bei nachfolgender Trocknung eine verhältnismäßig stark konzentrierte Formalinlösung zu verwenden. Dieselbe hat bei Gerste und Hafer einen Gehalt von 0,4 Proz. Formaldehyd und haben die Versuche ergeben, daß die Abtödtung der Brandsporen durch Befeuchtung des Getreides mit einer 0,4-proz. Formalinflüssigkeit und anschließender der Trocknung im Trockenapparat mit Sicherheit gelungen ist. Es bleibt nur noch abzuwarten, ob die so desinfizierte Saat, in sterilisierten Boden ausgesät, nicht etwa doch noch brandkranke Pflanzen entstehen läßt. Das Resultat dieses Versuches läßt sich erst im nächsten Jahre gewinnen, doch ist aber jetzt schon die begründete Aussicht auf ein befriedigendes Ergebnis vorhanden, da nämlich Sporen, welche durch Wasserabspülung von diesjähriger Saat gewonnen waren, sich nicht keimfähig zeigten, sobald sie von desinfizierter Saat genommen waren. Dagegen erwiesen sich Sporen von nicht desinfizierter Saat keimfähig. Weitere Versuche mit Wintergerste haben gelehrt, daß schon durch den bloßen Trocknungsprozeß die Keimfähigkeit eine Erhöhung um mehr als 4 Proz. erfahren hat (ohne Behandlung 91 Proz., nach dem Trocknen 95,31 Proz.). Eine ähnliche Wirkung zeigte sich bei dem desinfizierten und getrockneten Saatgut (85,92 bezw. 92,80 Proz.), so daß man mit Sicherheit sagen kann, daß durch das gesamte Desinfektionsverfahren keine Verschlechterung der Keimfähigkeit eingetreten ist. Die mit Hafer angestellten Versuche bestätigten die bei Gerste gemachten Erfahrungen vollkommen, denn es war die Abtötung der Sporen von Ustilago carbo in derselben Weise gelungen wie bei Gerste von Ustilago hordei und densenii (unbehandelt 89,75 Proz., nur getrocknet 92,50 Proz., desinfiziert 88,50 Proz., desinfiziert und getrocknet 91,25 Proz. Keimfähigkeit). Hier ist der günstige Einfluß des Trocknens speziell bei älterem Saatgut zu erkennen. In Bezug auf den Einfluß des Desinfektionsverfahrens auf die Wurzelbildung und das Auflaufen der jungen Saat konnte keine abnorme Erscheinung beobachtet werden. Außerdem ergab auch eine gleichzeitig bewirkte Aussaat von desinfiziertem und nicht desinfiziertem Samen einen so befriedigenden Aufgang beider Saaten, daß eine Benachteiligung durch die Desinfektion in keiner Weise zu erkennen war. Notwendig ist schließlich noch, auf eine eventuelle Verwendung der desinfizierten Saat zu Fütterungszwecken einzugehen. Die Mengen des auf dem getrockneten Saatgut anhaftenden Formalins sind jedoch so gering, daß sie in keiner Weise bei der Fütterung, wie auch durch einen Versuch bewiesen wurde, schädlich wirken können. Verf. faßt seine Erwägungen dahin zusammen, daß es, vorwiegend bei Gerste und Hafer, gelungen sei, ein neues Verfahren im großen zur Gewinnung brandfreien Saatgetreides auszuarbeiten. Stift (Wien).

Jacobi, A. und **Appel, O.**, Beobachtungen und Erfahrungen über die Kaninchenplage und ihre Bekämpfung. (Arbeiten a. d. Biol. Abt. am Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. II. 1902. p. 471–505. Mit 7 Abb.) Auch separat. Berlin (Paul Parey. 1902. M. 2.

Die Verff. schildern die von ihnen unternommenen ausgedehnten Versuche zur Massenvertilgung wilder Kaninchen und die Wirksamkeit der verschiedenen dabei angewandten Mittel, wobei eine Anzahl weniger bekannter biologischer Beobachtungen ebenfalls besprochen werden. Die Thatsache, daß sich das Kaninchen seit 25 Jahren in Nord- und Ostdeutschland zum fühlbaren Schaden der Landeskultur erheblich ausgebreitet hat, läßt sich zwar für das Deutsche Reich nicht durch Abschußzahlen nachweisen, wohl aber für Oesterreich (ohne Ungarn). In der Pentade 1874—1878 betrug hier der Abschuß 156274, für 1894—1898 aber schon 566845 Stück. Weiterhin werden die verschiedenen Arten der Schädigungen besprochen, und neben zahlenmäßiger Darstellung der an Nadelholzkulturen hervorgerufenen Verluste die charakteristischen Erscheinungen geschildert, welche der Kaninchenfraß an jungen Kiefern hervorbringt. Indirekten Schaden rufen die Tiere hauptsächlich durch Beunruhigung des Wildstandes und Herbeiführung von Forstfreveln hervor, die von den sogenannten Frettierern beim Fange mit Frettchen verübt werden. — Die bisherigen Bekämpfungsmittel werden in eigentliche Vernichtungsmittel (Abschuß, Frettieren, Fang in Tellereisen, Ausnehmen der Jungen aus den Setzröhren) und Abwehrmaßregeln gegliedert, welche im Bestreichen der Bäume mit widrigen Stoffen, Einbinden und Schutz durch Drahtzäune bestehen. Während die Verff. diesen Mitteln keinen nachhaltigen Erfolg zuzuerkennen vermögen, empfehlen sie auf Grund der angestellten Versuche die Vernichtung mit giftigen Gasen. Von den praktisch in Betracht kommenden Stoffen werden Acetylen und schweflige Säure (Piktolin) verworfen, Schwefelkohlenstoff dagegen empfohlen. Nach Widerlegung von Einwänden, welche auf seiner Feuergefährlichkeit fußen, wird nachgewiesen, daß die Wirkung schnell und sanft erfolgt und die Tiere nicht zu Fluchtversuchen veranlaßt. Die Art und Weise der Anwendung, welche schon in einem vom Gesundheitsamte herausgegebenen Flugblatte (No. 7. 1901. Berlin, Parey) geschildert worden ist, wird ausführlich besprochen und namentlich betont, daß die Bekämpfung im Baue am besten im Winter bei Schneebedeckung durchgeführt wird. Die Kosten stellen sich selbst bei reichlicher Bemessung als weit niedriger heraus, als sie bei irgend einem der anderen Verfahren erwachsen. Zum Schlusse wird die von den Verff. praktisch durchgeführte Reinigung des von Kaninchen arg heimgesuchten Truppenübungsplatzes Posen geschildert und daraus die allgemeinen Grundgesetze abgeleitet, die für die Bekämpfung einer Kaninchenkalamität in Frage kommen müssen. Jacobi (Berlin.)

Neue Litteratur,

zusammengestellt von
San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,
Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Mayer, P., Protozoa. Jahresbericht für 1901. (Zool. Jahresber. d. Stat. Neapel für 1901. 16 p.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Encyklopädie der mikroskopischen Technik, mit besonderer Berücksichtigung der Färbelehre. Hrsgeg. v. Paul Ehrlich, Rud. Krause, Max Mosse, Heinr. Rosin, Carl Weigert. II. Abt. p. 401—800 m. Abbildgn. gr. 8°. Wien (Urban und Schwarzenberg) 1902. 10 M.

Petri, R. J., Farbentropfflasche zum Färben von mikroskopischen Präparaten. (Görbersdorfer Veröff. a. Dr. Brehmer's Heilanst. f. Lungenkranke. (Berlin (Vogel & Kreienbrink) 1902.) p. 11—12.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bradford, J. R. and **Plimmer, H. G.,** The Trypanosoma Brucii, the organism found in Nagana or tsetse disease. (Quart. journ. of microsc. science. Vol. XLV. 1902. pt. 3. p. 449—472.)

Clerc, W., Contribution à l'étude de la faune helminthologique de l'Oural. Commun. prélim. II. (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 681. p. 658—664.)

Dönitz, W., Beiträge zur Kenntnis der Anopheles. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XLI. 1902. Heft 1. p. 15—88.)

Errera, E., Sur une bactérie de grandes dimensions: Spirillum colussus. (Recueil de l'Instit. bot. de Bruxelles. 1902.)

Eysell, A., Bemerkungen über die Flügel der japanischen Anopheles-Mücken. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1902. No. 9. p. 296—297.)

Hartig, Rob., Der echte Hausschwamm und andere das Bauholz zerstörende Pilze. 2. Aufl., bearb. u. hrsg. von E. Frhr. v. Tubeuf. VII, 105 p. m. 33 z. T. farb. Abbildgn. gr. 8°. Berlin (Julius Springer) 1902. 4 M.

v. Linstow, Filaria cingula n. sp. (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 680. p. 634—635.)

Ludlow, C. S., Description of a new Anopheles. (Journ. of the Amer. med. assoc. Vol. XXXIX. 1902. No. 8. p. 426—427.)

Rüther, R., Davainea mutabilis. [Inaug.-Dissert.] Gießen. 8°. 21 p. Hannover 1901.

Schultz-Schultzenstein, Ueber nitrifizierende Mikroorganismen in den Filtern biologischer Kläranlagen. [Vorl. Mitt.] (Hygien. Rundschau. 1902. No. 17. p. 845.)

Stempell, W., Ein neues parasitäres Protozoon aus Branchipus Grubei Dyb. (Polycaryum branchipodianum n. g. n. sp.) (Verhandl. d. V. internat. Zoolog.-Kongr. 1902. p. 685.)

Steuer, A., Mytilicola intestinalis n. g. n. sp. aus dem Darme von Mytilus galloprovincialis Lam. [Vorl. Mitt.] (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 680. p. 635—637).

Stiles, Ch. W., The type-species of certain genera of parasitic flagellates, particularly Grassi's genera of 1879 and 1881. (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 682. p. 689—695.)

— —, Eimeriella, new genus of coccidia. (Elev. miscell. pap. Anim. paras. 1902. p. 18—19.)

Trägårdh, J., Pimelobia apoda nov. gen., nov. spec., eine auf Coleopteren parasitierende fußlose Sarkoptide. [Vorl. Mitt.] (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 680. p. 617—618.)

Weichselbaum, A., Beiträge zur Kenntnis der anaëroben Bakterien des Menschen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 6. p. 401—413.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Fischer, B., Zur Aetiologie der sogenannten Fleischvergiftungen. (Verhandl. d. Ges.

dtsch. Naturforscher u. Aerzte zu Hamburg. 1901. Tl. 2. Hälfte 2. p. 565—568.) Leipzig (F. C. W. Vogel) 1902.

Kionka, H. u. **Ebstein, L.**, Ueber die chronische Sulfitvergiftung. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XLI. 1902. Heft 1. p. 123—146.)

Schulz, A., Ueber die Berechtigung des Bundesratsbeschlusses vom 18. Februar 1902 bezüglich des Verbotes der schwefligen Säure und ihrer Salze. (Dtsche med. Wchschr. 1902. No. 38. p. 685—688.)

Milch, Molkerei.

König, J. u. **Spieckermann, A.**, Beiträge zur Zersetzung der Futter- und Nahrungsmittel durch Kleinwesen. III. **Tillmans, J.**, Das Fadenziehend- und Schleimigwerden der Milch. (Ztschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1902. Heft 19, 20. p. 897—913, 945—961.)

Reinhardt, K. W., Untersuchungen der Butter der Marburger Gegend auf ihren Bakteriengehalt. [Inaug.-Dissert.] 8^0. 38 p. Marburg 1902.

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Kober, H., Ueber Unkrautsamen im Mehl. Inaug.-Dissert. 52 p. 8^0. Würzburg. 1902.

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Lange, L., Versuche über die Wohnungsdesinfektion nach dem Verfahren von Krell-Elb. (Hygien. Rundschau. 1902. No. 15. p. 729—743.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Kramář, U., Studien über die Mykorrhiza von Pirola rotundifolia. (Bullet. internat. de l'acad. d. scienc. de Prague, Scienc. math.-nat. Vol. VI. 1901. p. 9—15.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Anastasia, G. E., Insetti nocivi al tabacco. (Boll. tecn. d. colt. tabacchi Scafati. 1902. p. 71.)

Bain, S. M., The action of copper on leaves. With special reference to the injurious effects of fungicides on peach foliage. (Bullet. of the agricult. experim. stat. of Tennessee. Vol. XV. 1902. p. 21—108.)

Beseler, W., Eine eigentümliche Erscheinung auf den Cunrauer Moordamm-Kulturen nach Anwendung von Kupfervitriol. (Mitt. d. Ver. f. Moorkultur. 1901. p. 211—212.)

Buhl, F., Was können wir für die Reblausbekämpfung im Deutschen Reiche aus den neuesten Erfahrungen im französischen Seuchengebiete lernen? (Weinbau u. Weinhandel. 1902. No. 37. p. 389—390.)

Fischer, E., Aecidium elatinum Alb. et Schw., der Urheber des Weißtannen-Hexenbesens und seine Uredo- und Teleutosporenform. [2. Mitt.] (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XII. 1902. Heft 4. p. 193—202.)

Fleutiaux, E., Insectes nuisibles de Madagascar. (Bullet. de la soc. entomol. de France. 1902. No. 9. p. 173—174.)

Garcia, F., Spraying orchards for the codling moth. New Mexico coll. of agricult. and mech. arts. Agric. experim. stat. Bullet. No. 41. 8^0. 26 p. Santa Fe 1902.

Haindl, A., Anwendung der Bordelaiser Brühe (Kupfervitriolbrühe). (Gartenwelt. 1902. p. 403—404.)

Held, Der gebuchtete Prachtkäfer, ein böser Feind unserer Obstbäume. (Dtsche landwirtschaftl. Wochschr. 1902. No. 37. p. 249—250.)

Hojesky, J., Pflanzenpathologische Beobachtungen auf der Sandlingalpe. (Wien. landwirtschaftl. Ztg. 1902. No. 65. p. 553.)

Iwanowski, D., Die Mosaik- und die Pockenkrankheit der Tabakspflanze. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XII. 1902. Heft 4. p. 202—203.)

Kalidüngung, über, zu Zuckerrüben und die Wirkung der Nematoden auf die Zuckerrüben. (Blätt. f. Zuckerrübenbau. 1902. No. 18. p. 280—287.)

Kirchner, O., Die Obstbaumfeinde, ihre Erkennung und Bekämpfung. Gemeinverständlich dargestellt. Mit über 100 kolor. Abbildgn. auf 2 Taf. u. 13 Textfig. IV. gr. 8⁰. 37 p. Stuttgart (Eugen Ulmer) 1902. 2 M.
Navarro, L., Enfermedades de los trigos, manera de prevenirlas ó de combatirlas. 4⁰. Madrid (M. G. Hernandez) 1902. 7 pes.
Peglion, V., La peronospora del frumento (Sclerospora graminicola) nel Ferrarese. (Atti d. accad. d. Lincei. Vol. XI. 1902. p. 389—392.)
— —, Sopra il parassitismo dei Botryosporum. La Peronospora del frumento. (Annali d. staz. d. patol. veget. Vol. I. Roma 1901.)
Prillieux, E., Les périthèces du Rosellinia necatrix. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 5. p. 275—278.)
Ribaga, C., Insetti nocivi all' olivo ed agli agrumi. 142 p. 8⁰. Portici 1902.
Sajó, K., Die Bekämpfung der Spargelfeinde und einige Schlußbetrachtungen. (Prometheus. 1902. No. 656. p. 497—499.)
Sanderson, E. D., Insects injurious to staple crops. X, 255 p. with 163 fig. New York (J. Willey) 1902.
Stuhlmann, F., Ueber den Kaffeebohrer (Anthorus leuconotus Pascoe). (Ber. üb. Land- u. Forstwirtsch. in Deutsch-Ostafrika. Bd. I. 1902. Heft 2. p. 154—161.)
Suzuki, U., Chemische und physiologische Studien über die Schrumpfkrankheit des Maulbeerbaumes; eine in Japan sehr weit verbreitete Krankheit. (Ztschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. XII. 1902. Heft 4. p. 203—226.)
Weiss, J. E., Obstverwertung und Pflanzenschutz. (Prakt. Blätt. f. Pflanzenschutz. 1902. Heft 9. p. 67—70.)
Weiss, Die Halmfliege (Chlorops taeniopus) in Bayern. (Prakt. Blätter f. Pflanzenschutz. 1902. Heft 8. p. 62—64.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.
In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U.S.A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 6. Dezember 1902. **No. 21.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäßige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Beitrag zur Kenntnis der Erreger der schleimigen und fadenziehenden Milch und Charakterisierung des Coccus lactis viscosi.

[Arbeit aus dem bakteriologischen Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen in Kiel. Vorstand: Prof. Dr. Weigmann.]

Von Dr. **Th. Gruber** in Kiel.

Mit 1 Tafel.

Eine Gutsmeierei in Schleswig-Holstein schickte im Monat Juli 1902 Milchproben zur bakteriologischen Untersuchung ein mit

dem Bemerken, daß die Milch in letzter Zeit zersetzt und ungenießbar an Ort und Stelle des Konsums ankomme; auf welche Art und Weise diese Zersetzung der Milch sich äußere, wurde in dem betreffenden Schreiben nicht erwähnt. Die zur Isolierung der Keime fraglicher Milch angelegten aëroben Platten zeigten beinahe eine Reinkultur von kleinen, rundlich aussehenden, weißlichen Tiefenkolonieen, über denen die Gelatine völlig rund verflüssigt war. Diese Tiefenkolonieen bildeten zähe Scheiben, die sich mit dem Platindrahte nur ganz dem Nährmedium entnehmen ließen. Diese überwiegende große Anzahl dieser Tiefkolonieen ließ die Vermutung auftreten, sie könnten der Urheber der fraglichen Zersetzung der Milch sein. Eine Umimpfung solcher Tiefenkolonieen in sterilisierte Milch realisierte die geschöpfte Vermutung, da innerhalb sehr kurzer Zeit bei einer Temperatur von 32—34 und 16—22° C dieselbe außerordentlich schleimig und fadenziehend wurde, zugleich erfolgte Ausfällung des Caseïns und dann wieder Peptonisierung desselben. Die anderen nur vereinzelt auftretenden Kolonieen auf den Platten erwiesen sich der Milch gegenüber als völlig indifferent.

Eine Nachfrage bei dem Einsender der Milchproben, wie sich nun die Zersetzung bewußter Milch zu erkennen gäbe, hatte die Auskunft zur Folge, daß die betreffende Milch immer schleimig und fadenziehend in die Hände des Konsumenten gelange. Diese Mitteilung deckte sich völlig mit dem Resultate des bakteriologischen Befundes. Nach dem Melken wurde in betreffender Gutsmeierei die Milch sofort gut abgekühlt und alsdann dem Transporte übergeben, eine Pasteurisierung fand nicht statt; wäre letztere in Anwendung gekommen, so wäre die unliebsame Zersetzung der Milch ausgeblieben, da, wie später die Versuche über die Resistenzfähigkeit des isolierten Mikroorganismus gegenüber einer bestimmten Erhitzungsdauer bei einer gewissen Temperatur zeigen werden, eine momentane Erhitzung auf 85° C genügte, um den Mikroorganismus völlig abzutöten.

Die so stark sich äußernde physiologische Thätigkeit dieses Mikroorganismus in Milch, dieselbe in so kurzer Zeit in eine schleimige und fadenziehende Beschaffenheit zu versetzen, veranlaßte das bakteriologische Laboratorium der Versuchsstation für Molkereiwesen zu Kiel, dieses Bakterium näher zu untersuchen und mit den schon bekannten Erregern der schleimigen und fadenziehenden Milch zu vergleichen, event. mit einem derselben zu identifizieren.

Die Erreger der schleimigen und fadenziehenden Milch können ihrer physiologischen Thätigkeit nach in zwei Kategorieen untergebracht werden: 1) Mikroorganismen, die wirkliche Schleimbildner sind, d. h. es sind darunter solche Bakterien zu verstehen, die von Anfang an ihrer Isolierung aus natürlichem Substrate diese Eigenschaft besitzen und 2) in solche, deren Schleimbildung einer Degenerationserscheinung zuzuschreiben ist. Letztere Beobachtung konnte ich z. B. an verschiedenen Stämmen der Aërogenes-Gruppe machen, indem diese nach längerer Umimpfung in Milch letztere

schleimig und fadenziehend machten, während sie in den ersten Perioden der Ueberimpfung diese Eigenschaft nicht besaßen, sondern nur mehr oder minder stärkere Milchzuckervergärungen hervorbrachten, diese Gasbildung in der Milch hatte beim Eintritt der Schleimbildung beinahe ganz sistiert. Einzelne Stämme behielten die Schleimbildung und die geringe Virulenz der Gasbildung bei, während andere hingegen wieder in ihr erstes Stadium der starken Milchzuckervergärung zurückkehrten und die Degenerationserscheinung der Schleimbildung völlig abstreiften. Bei der Anfertigung von Reinkulturen zur Säuerung des Rahmes, beziehungsweise bei der längeren Weiterzüchtung der säure- und aromabildenden Milchsäurebakterien kam es häufig vor, daß die kräftige und aromatische Säuerung nachgelassen hatte, hingegen eine starke Schleimbildung zu Tage trat, was natürlich diese Kulturen für ihre Zwecke unbrauchbar machte. Diese angeführten 2 Beispiele von verschiedenen Aërogenes- und Milchsäurebakterien-Arten rechtfertigen vollständig die aufgestellte zweite Kategorie der Schleimbildner.

Bei der näheren Beschreibung solcher schleimbildenden Bakterien konnte und kann natürlich nur die erste Klasse in Betracht gezogen werden; bis zur Zeit sind mehr oder minder vollständig bakteriologisch untersucht worden:

1) Bacillus viscosus Adametz (1).
2) Loeffler's Bacillus (2).
3) Bacillus mesentericus vulgatus Flügge (3).
4) Guillebeau's Bacillus von Freudenreich (4).
5) Pseudomonas viscosa Migula (5).
6) Actinobacter du lait visqueux Duclaux (6).
7) Actinobacter polymorphus Duclaux (7).
8) Die van Laer'schen Bacillen No. 1 und No. 2 (8).
9) Ein auf Pinquicula vorkommender Mikroorganismus (9), der Urheber der schwedischen Dichtmilch oder langen Milch.
10) Bacillus lactorubefaciens Gruber (10).
11) Der Coccus von Schmidt (11).
12) Micrococcus Freudenreichii (12).
13) Micrococcus der langen Wei von Weigmann (13).
14) Micrococcus mucilaginosus Ratz (14).
15) Die Streptokokken von Hess und Borgeand (15).
16) Carphococcus pituitoparus Hohl (16).

Der im hiesigen Laboratorium isolierte Mikroorganismus gehört zur Gruppe der Coccaceae, speziell zu der Unterabteilung, bei der sich die Teilung nach zwei senkrecht zu einander stehenden Richtungen der Fläche vollzieht, er bildet mithin beinahe ausschließlich Tetraden und sarcinaähnliche, einschichtige Anordnungen. Eine genaue Beschreibung und Charakterisierung schließt hier an und ich bemerke schon an dieser Stelle, daß Coccus lactis viscosi nach den vorhandenen Aufzeichnungen mit den schon bekannten Erregern der schleimigen und fadenziehenden Milch nicht identisch ist, was am Schlusse der Arbeit erläutert werden wird.

Fundort: In Milch, die leicht der Zersetzung ausgesetzt war.

(15-proz.) Gelatineplatten 16—20° C.

Nach dreitägigem Stehen zeigen sich in der Gelatine kleine, rundlich aussehende, höchstens $^1/_4$ mm im Durchmesser fassende, weißliche Tiefenkolonieen, über denen die Gelatine ungefähr 1 mm groß, kreisrund verflüssigt ist. Die kleinen Kolonieen sind sehr zähe und kompakt und lassen sich nur ganz mit dem Platindrahte dem verflüssigten Nährmedium entnehmen. Bei 80facher Vergrößerung erscheinen diese Tiefenkolonieen am Rande grobgekörnt, zerfressen, blattartig ausgelappt, manchmal moosartig verzweigt und durchsichtig, im Innern hingegen völlig dunkel (Fig. 1, schwache Vergrößerung). Nach dem 6ten Tage haben diese Kolonieen einen Durchmesser von 1 mm erreicht und gleichen, mit unbewaffnetem Auge betrachtet, kleinen, unregelmäßigen, zerrissenen Papierstückchen, die im durchfallenden Lichte grauweiß erscheinen. Die Konsistenz der Kolonieen ist nicht mehr so kompakt, wie in dem ersten Stadium der Entwickelung, vielmehr schleimig und fadenziehend, welche Eigenschaft auch die verflüssigte Gelatine besitzt.

Giebt man der Gelatine soviel sterilisierte Milch hinzu, daß dieselbe schwach opalisierend wird und sät alsdann die Keime aus, so werden die Kolonieen bedeutend größer wie in gewöhnlicher Gelatine, sie erreichen nach 5 Tagen schon einen Durchmesser von 4—5 mm, die unregelmäßige Gestaltung der einzelnen Kolonieen tritt hier mehr zu Tage. Das in der Gelatine suspendierte Caseïn wird gleichzeig mit derselben peptonisiert, die verflüssigte runde Zone über den Kolonieen erscheint völlig klar und hebt sich klar und deutlich von der opalisierenden Umgebung ab.

Die Anlegung von Gelatine-Tupfkolonieen zeigte ein nur ganz unbedeutendes, nicht charakteristisches Wachstum, Traubenzucker und Milchzuckerzusatz hatte auf das Wachstum keinen Einfluß. Die Kolonieen entwickeln sich besser in der Gelatine wie auf der Oberfläche.

Agarplatten bei 34—35° C.

Nach Verlauf von 2 Tagen bemerkt man makroskopisch runde bis schiffchenförmige Tiefenkolonieen, die Oberflächenkolonieen breiten sich flach aus, erreichen einen Durchmesser bis $^1/_2$ cm, sie sind grauweiß, glattrandig, glänzend, sehr schleimig und fadenziehend. Bei 90facher Vergrößerung sind die Tiefenkolonieen grobgekörnt, am Rande ausgefressen, manchmal konzentrisch geschichtet.

Agar-Tupfkolonieen, 32—34° C.

Bei einem Zusatz von 3 Proz. Milch- und Traubenzucker entstehen an den betreffenden Stellen innerhalb 24 Stunden bis 2 mm im Durchmesser fassende, grauweiße, erhabene, glänzende, fadenziehende Kolonieen, die bei 90facher Vergrößerung eine grobkörnige Struktur aufweisen mit glattem, durchscheinendem Rande. Bei einer Temperatur von 16—21° C war auf den Platten kein Wachstum zu verzeichnen, selbst nicht nach 3 Tagen. Die höhere Tem-

peratur 32—34 ° C ließ nach 3 Tagen die Kolonieen von 2 mm Durchmesser auf einen solchen von 4 mm sich vergrößern auf dem Nährmedium mit Traubenzucker, während Milchzucker dem Wachstum nicht so günstig schien, die fadenziehende Konsistenz und die grobkörnige Struktur wurde beibehalten.

(15-proz.) Gelatinestrichkultur, 16—21 ° C.

2 Tage nach der Impfung ist längs des ausgeführten Striches ein grauweißer, schleimiger und fadenziehender, dünner, schwacher Belagstreifen in die rinnenförmig verflüssigte Gelatine eingebettet. Die Form, Anordnung und Größe der einzelnen Individuen ist dieselbe wie auf Agarstrich bei derselben Temperatur.

Agarstrichkultur bei verschiedenen Temperaturen.

Die Zimmertemperatur 16—21 ° C läßt innerhalb dreier Tage einen ziemlich breiten, aber dünnen, durchscheinenden, grauweißen, glänzenden, zähen, sehr fadenziehenden Belagstreifen herumwachsen, das Kondenswasser bleibt klar, das in demselben gebildete Sediment ist grauweiß, sehr schleimig und fadenziehend. Ein Färbepräparat, angefertigt aus dem schleimigen Belagstreifen, zeigte nur Tetraden einzeln und zu mehreren sarcinaartig, aber einschichtigen Gruppierungen zusammengelagert (Fig. 2, 810facher Vergrößerung). Der Durchmesser eines Coccus im gefärbten Zustande betrug bis zu 1,75 μ. Im hängenden Tropfen betrachtet, konnte selbst bei den einfachen Verbänden keine Bewegung beobachtet werden, die Molekularbewegung war auch nicht vorhanden. Milchzucker und Traubenzuckeragar kam dasselbe Wachstum zu, nur begünstigte auch hier letzterer Zusatz das Wachstum. Bei 32—34 ° C besaß der Belagstreifen innerhalb 48 Stunden eine Breite von $^3/_4$ mm und nach 4 Tagen eine solche von 2 mm. Die Gruppierung der Bakterien war dieselbe wie bei Zimmertemperatur.

15-proz. Gelatine- und Agarstichkultur
bei 16—21 ° C.

Ein Oberflächenwachstum auf den beiden Nährmedien ist selbst nach 10 Tagen nicht zu konstatieren, während im Kanal schon nach 3 Tagen ein deutliches, aber nicht charakteristisches Wachstum sich zeigte. Um dieselbe Zeit begann in Gelatine um die Stichöffnung herum eine schalenartige Verflüssigung. Traubenzuckerzusatz war auch hier sehr befördernd für das Wachstum.

Kartoffelkultur 32—34 ° C.

Ziemlich breite, häutige, zähe, fadenziehende, bräunlichgelbe bis goldgelbe, glänzende Streifen bedecken die Kartoffelscheiben, die mit der Zeit eine crêmefarbige Nuance annehmen.

Bouillonkultur bei verschiedenen Temperaturen.

Das Wachstum bei 16—21, 32—34 und 6—10 ° C bei Gegen-

wart von Milch- und Traubenzucker wie auch ohne die beiden Zuckerarten ist ein kaum nennbares; gruppiert waren die Bakterien zumeist in Triaden und Tetraden neben wenigen Diplokokken.

Milchkulturen bei verschiedenen Temperaturen.

Innerhalb sehr kurzer Zeit tritt bei einer Bruttemperatur von 32—34° C Fällung des Caseïns und Peptonisierung eines Teiles desselben ein, zugleich ist die Milch sehr schleimig und fadenziehend, die Reaktion ist zu Anfang schwach alkalisch, wird später aber sauer. Bei Zimmertemperatur unterbleibt die Ausfällung des Caseïns, in sehr kurzer Zeit wird auch hier die Milch sehr schleimig und fadenziehend, die Peptonisierung erfolgt nach und nach, die Reaktion ist anfangs auch alkalisch, erst nach vollständiger Peptonisierung gewinnt die sauere Reaktion die Oberhand. Etwas verlangsamend auf die Schleimbildung der Milch wirkt eine Temperatur von 6—10° C, erst nach 48 Stunden läßt sich die Milch in lange Schleimfäden ausziehen, Peptonisierung erfolgt hier noch langsamer wie bei Zimmertemperatur, Reaktion ist und bleibt amphoter. Setzt man steriler Milch gleichzeitig Milchsäurebakterien und Coccus lactis viscosi zu, wird bei 6—10 und 16—21° C innerhalb 24 Stunden die Milch schleimig und fadenziehend gemacht, bei 32—34° gewinnen die Milchbakterien die Oberhand insofern, daß die Milch gleichmäßig geronnen ist, beim Ausgießen bemerkt man aber auch die Wirkung dieses Coccus lactis viscosi an den sich bildenden Schleimfäden. Nicht pasteurisierte, gewöhnliche Vollmilch unterliegt bei 6—10° C innerhalb 5 Tagen und bei 16—21° C innerhalb 24 Stunden der Schleimbildung; die hohe Bruttemperatur beeinflußt die rapide Entwickelung anderer Mikroorganismen, so daß Coccus lactis viscosi im Kampfe mit denselben unterliegt.

Versuche über die Resistenzfähigkeit des Coccus lactis viscosi gegenüber höherer Temperatur.

Da dieser Coccus in der Praxis die unliebsamen Zersetzungen der Milch veranlaßte, wurden zur Bestimmung der Widerstandsfähigkeit auch jene Temperaturen gewählt, die bei der Pasteurisierung der Milch ihre Anwendung finden, nämlich 80 und 85° C. Der Versuch wurde folgendermaßen ausgeführt:

Reagensgläschen von 130 mm Größe und 18 mm lichter Weite wurden mit 5 ccm Magermilch beschickt, in drei aufeinander folgenden Tagen je $^1/_2$ Stunde bei 98° C sterilisiert und im Brutschrank bei 32—34° auf den Grad ihrer Sterilität genau geprüft. Die als völlig steril befundenen Röhrchen wurden reichlich mit Coccus lactis viscosi von einer 6 Tage alten Agarstrichkultur geimpft und gut gemischt; sie kamen dann in ein Wasserbad, das 3—5° höher erhitzt war als die eigentliche Versuchstemperatur sein sollte, und zwar so, daß nach Eintauchen des sterilen Thermometers die Oberfläche der Milch im Röhrchen bedeutend unter die Oberfläche des erhitzten Wassers kam. Von

dem Momente an, in dem das Reagensglas, das an einem kleinen, eigens für diese Zwecke hergestellten eisernen Stative befestigt war, wurde immer gerührt, um eine gleichmäßige Erhitzung der Milchteilchen zu erzielen, erst aber von dem Augenblicke an, in dem das Thermometer die gewünschte Temperatur anzeigte, wurde die Erhitzungsdauer gerechnet. Dadurch nun, daß die Milchoberfläche bedeutend unter dem Spiegel des erhitzten Wassers lag, wurden die eventuellen kleinen Spritzer, die durch das Umrühren entstehen könnten, immer auf der richtigen Temperatur gehalten, was nicht der Fall gewesen wäre, wenn beide Oberflächen in gleicher Höhe gelegen wären; im letzteren Falle wäre die Genauigkeit des Versuches sehr zu beanstanden gewesen.

Nach der jeweiligen Erhitzungsdauer wurden die Reagensgläschen auf 2° C abgekühlt und sofort Platten angelegt. Mittelst steriler Pipetten wurde die erhitzte Milch entnommen und jedesmal 3 Tropfen in eine Petri-Schale abpipettiert, dann flüssiggemachte Gelatine oder Agar zugegeben, durch Neigen und Bewegen wurde eine gleichmäßige Verteilung der Milchtropfen erzielt. Nach Verlauf von 5 Tagen wurden die Platten der Prüfung unterworfen.

Resultate der Erhitzung.

Bei einer Erhitzungsdauer von 1 Minute bei 80° waren Agar- und Gelatineplatten reich besät mit den Kolonieen des Coccus lactis viscosi, während die Erhitzung von 2 Minuten auf 80°, die momentane Erhitzung auf 85° C, ebenso diejenige von 1 und 2 Minuten auf 85° sämtliche Keime abtötete, die Platten blieben alle steril.

Unterscheidungsmerkmale des Coccus viscosus gegenüber den schon bekannten Erregern.

Die morphologische Gestalt, d. h. die Gruppierung in Tetraden und sarcinaähnliche einschichtige Tafeln, unterscheidet den Coccus viscosus von dem Coccus von Schmidt, von dem Micrococcus Freudenreichii, von den Streptokokken von Hess und Borgeand, von dem Coccus Weigmannii, letztere bilden meistens Streptokokken, besitzen mithin nur eine Teilung nach einer Richtung, während Coccus viscosus seine Teilungen in zwei aufeinander senkrecht stehenden Richtungen vollzieht. Die Verflüssigung der Gelatine haben Coccus lactis viscosi und Micrococcus Freudenreichii gemeinsam, die Kolonieen selbst sind von einander verschieden, rund und glattrandig erscheinen die Kolonieen des Coccus von Freudenreich, kleinen zerrissenen Papierstückchen ähnlich jene des Coccus viscosus, deren Rand bei schwacher Vergrößerung zerfressen, ausgelappt manchmal moosartig dem Beobachter sich darbietet. In Milch ruft der Freudenreich'sche Coccus sehr bald eine saure Reaktion hervor, alkalische Reaktion und erst später saure Reaktion veranlaßt Coccus lactis viscosi. Die peptonisierende Eigenschaft

der Gelatine fehlt dem Streptococcus der langen Wei von Weigmann, die Kolonieen selbst in der Gelatine sind rund und scharf gerandet — ebenso verflüssigt der Micrococcus mucilaginosus Ratz die Gelatine nicht, das geronnene Caseïn der Milchkultur von letzterem Mikroorganismus ist klebrig, nicht sehr fadenziehend, welche Eigenschaft aber dem Coccus lactis viscosi in starkem Maße zukommt.

Der erst in neuester Zeit aus Stroh isolierte Carphococcus pituitoparus Hohl verflüssigt die Gelatine nicht und verleiht der Milch nie eine saure Reaktion, das Caseïn wird nicht zum Gerinnen gebracht, Coccus lactis viscosi hingegen fällt das Caseïn bei Bruttemperatur, dann tritt Peptonisierung ein, die Reaktion älterer Milchkultur ist immer sauer; eine Verflüssigung der Nährgelatine tritt bei Coccus viscosus bald ein.

Ein Vergleich mit den anderen zehn früher angeführten Erregern der schleimigen und fadenziehenden Milch ist wegen ihrer Stäbchenform nicht anzustellen.

Die Hauptcharakteristika des Coccus lactis viscosi seien hier zum Schlusse kurz zusammengefaßt:

1) Die in sehr kurzer Zeit auftretende Schleimbildung der Milch, so daß dieselbe in sehr lange Fäden ausgezogen werden kann;

2) die anfängliche alkalische, später saure Reaktion der Milch;

3) die sehr bald eintretende Verflüssigung 15-proz. Gelatine;

4) das charakteristische Aussehen der Gelatineplattenkolonieen;

5) das bessere Wachstum bei Luftabschluß;

6) die entschiedene Tendenz der Teilung des einzelnen Coccus nach zwei aufeinander senkrecht stehenden Richtungen.

Litteratur.

1) Bakteriolog. Centralblatt. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 406.
2) Milchzeitung. 1889. p. 941 und Flügge, Mikroorganismen. 3. Aufl. p. 359.
3) Flügge, Mikroorganismen. 3. Aufl. 1896. p. 198.
4) Flügge, Mikroorganismen. 3. Aufl. 1896. p. 358.
5) Migula, System der Bakterien. Bd. II. p. 900.
6) Stohmann, Die Milch und Molkereiprodukte. p. 367.
7) Migula, System der Bakterien. Bd. II. p. 689.
8) Bakteriolog. Centralblatt. Bd. IX. 1891. p. 700.
9) Flügge, Mikroorganismen, 3. Aufl. 1896. p. 359.
10) Bakteriolog. Centralblatt. Abt. II. Bd. VIII. 1902. No. 15/16. p. 457.
11) Pflüger's Archiv für gesamte Physiologie. Bd. XXVII. 1884. p. 490.
12) Landwirtschaftliches Jahrbuch der Schweiz. V. Bd. 1891. p. 135.
13) Landwirtschaftliches Wochenblatt f. Schleswig-Holstein. 39. Jahrg. No. 47.
14) Migula, System der Bakterien. Bd. II. p. 119.
15) Bakteriolog. Centralblatt. Bd. IX. 1891. p. 700.
16) Bakteriolog. Centralblatt. Abt. II. Bd. IX. p. 338.



Fig. 1.

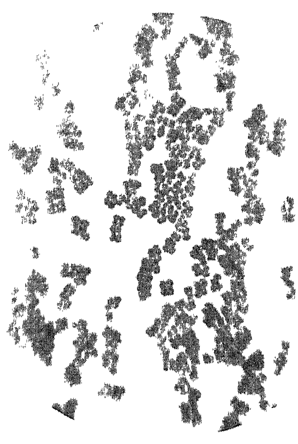


Fig. 2.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena**.

Mitteilungen aus der vom kgl. bayer. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.

Einfluss der alkoholischen Gärungsprodukte auf Hefe und Gärverlauf.

Von **Fritz Thibaut.**

(Fortsetzung.)

Zur Gewinnung der Ausscheidungsprodukte beschickte ich Kolben mit je 500 cbm Saccharosehefewasser, sterilisierte dieselben im strömenden Wasserdampf und impfte sie sodann nach mehrtägigem Stehen behufs Aufnahme von Sauerstoff mit der Hefe Frohberg resp. Sacch. Past. III.

Als Verschluß diente auch hier eine teilweise mit sterilem Wasser gefüllte U-Röhre. Durch tägliches Wägen der Kolben nach kräftigem Umschütteln derselben behufs Entfernung der durch die Gärung gebildeten Kohlensäure konnte der Verlauf der Gärung annähernd verfolgt werden. War der Zucker fast vollständig verbraucht, fügte ich neue gewogene Rohrzuckermengen, welche vorher trocken sterilisiert waren, zu. Diese Manipulation setzte ich so lange fort, bis durch die Wägung der Gärkolben keine Gewichtsabnahme innerhalb 1 bis 2 Tagen mehr konstatiert werden konnte, ein Zeichen, daß die Gärthätigkeit der Hefe unter den obwaltenden Bedingungen beendigt war. Die auf diese Weise mit den Ausscheidungsprodukten der beiden Hefen angereicherten Flüssigkeiten dienten als Zusatz für die Versuche.

Um die Stoffwechselprodukte thunlichst hefefrei zu erhalten, ließ ich die vergorene Flüssigkeit in der Temperatur des Eiskastens gut absitzen, worauf ich den vollständig klaren überstehenden Teil abgoß und wiederholt durch ein dreifaches steriles Filter filtrierte. Selbstredend geschah diese Filtration zur Vermeidung jeder Infektion mit Hilfe eines zu diesem Zweck besonders zusammengestellten Glasapparates in der Weise, daß das sterile Wattefilter, das bisher den Kolben mit der zu filtrierenden Flüssigkeit abschloß, rasch durch eine sterile Glasröhre, die bis zum Boden des Gefäßes reichte, und passenden, ebenfalls sterilen Gummistopfen ersetzt wurde.

Die Glasröhre führte nach einer zuvor aussublimatisierten Glasglocke, in der sich das sterile Glasgefäß mit eben solchem Trichter und Filter befand.

Die Glasglocke war auf einem Glasteller mittels Vaselin luftdicht aufgesetzt, außerdem stand dieselbe mit dem Wasserstrahlgebläse in Verbindung. Um jeder Zeit den Zufluß zum Filter regulieren zu können, war die Leitungsröhre zwischen den beiden Flaschen unterbrochen durch einen dickwandigen sterilen Gummischlauch mit Quetschhahn.

Das auf diese Weise erhaltene Filtrat erwies sich leider aber nicht hefefrei.

Ich schritt deshalb zur Gewinnung einer sicher hefefreien Vergärungsflüssigkeit durch Anwendung des Bakterienthonfilters von Chamberland. Dem Bedenken, daß sich der Benützung dieser Filterkerze, die zuvor mit Lauge, Säure und warmem destillierten Wasser behandelt war, entgegenstellte, konnte ich durch die übereinstimmende Analyse der Flüssigkeit vor und nach dem Filtrieren begegnen.

Die zur Aufnahme des Filtrats bestimmten Absaugeflaschen ließen sich bequem, mit den Kerzen zusammengesteckt und mit Filterpapier in mehreren Lagen umbunden, im strömenden Wasserdampf sterilisieren.

Die Filtration der Flüssigkeit ging vermittelst der Saugpumpe sehr glatt von statten, die Filtrate selbst hatten einen angenehmen Geruch und besaßen schwach gelbe Farbe.

Die Resultate meiner Versuche sind in den Tabellen 1 bis 15 niedergelegt.

In der Tabelle 1 sind die bei Keller- und Zimmertemperatur erhaltenen Resultate mit Sacchar. Past. III in reinen Nährlösungen, in den Tabellen 2 und 3 unter Zusatz von je 5, 20 und 50 Proz. der oben beschriebenen hefefreien Gärflüssigkeit derselben Hefe enthalten, während in den Tabellen 4 und 5 die Resultate der Gärversuche von Pastorianus III mit Zusätzen hefefreier Gärflüssigkeit der Hefe Frohberg verzeichnet sind.

Die Versuche mit Hefe Frohberg unter Zusatz der eigenen und der Gärungsprodukte von Pastorianus III befinden sich in den Tabellen 6—9.

Zur besseren Uebersicht der erhaltenen Resultate habe ich aus den erwähnten Tabellen Auszüge gemacht, aus welchen der Einfluß der Gärungsprodukte auf das Inversionsvermögen, die Vermehrungsenergie, das Vermehrungsvermögen, die Gärungsenergie, das Gärvermögen, die Alkohol- und Säurebildung ersichtlich ist. Hierzu sei noch erläuternd bemerkt, daß ich nach dem Vorschlage des Herrn Prof. Dr. Prior, ebenso wie das bereits bei allen unter dessen Leitung ausgeführten gärungsphysiologischen Arbeiten geschehen ist, verstehe:

1) Unter Vermehrungsenergie die Anzahl der Zellen, welche bei den Kellerversuchen nach 8 Tagen, bei den Zimmerversuchen nach 4 Tagen aus einer Zelle entstanden ist, während ich mit Vermehrungsvermögen die aus einer Zelle am Ende des Versuches gebildeten Zellen bezeichnet habe.

2) Unter Gärungsenergie die Anzahl Milligramme Saccharose, welche von 1 Million Hefezellen bei den Kellerversuchen nach 8, bei den Zimmerversuchen nach 4 Tagen vergoren worden sind.

Mit Gärvermögen hingegen bezeichnete ich die von 1 Million Hefezellen am Ende des Versuchs vergorenen Milligramme Zucker.

Betrachtet man zunächst Tab. 10 u. 11, so ergiebt sich, daß sowohl bei den Keller- als Zimmerversuchen das Inversionsvermögen der beiden Hefen bei Zusatz ihrer eigenen Gärungsprodukte gegenüber denjenigen in reinen Nährlösungen insbesondere innerhalb der ersten 8 bezw. 4 Tage bedeutend beeinträchtigt und verzögert

wird, und zwar ist der Einfluß bei Hefe Frohberg größer als bei Pastorianus III.

Aehnlich verhalten sich die Hefen bei wechselseitigem Zusatz ihrer Gärungsprodukte doch ist hier ganz besonders der Umstand bemerkbar, daß in dieser Richtung Hefe Frohberg weniger durch die Produkte von Pastorianus III als durch ihre eigenen beeinflußt worden ist.

Auch beobachtet man, daß Zusatz einer gewissen Menge von Gärungsprodukten das Inversionsvermögen wenig oder nicht beeinträchtigt, während vermehrter Zusatz hemmend wirkt.

In den Tabellen 12 und 13, aus welchen der Einfluß der Gärungsprodukte auf Vermehrungsenergie und Vermehrungsvermögen zu ersehen ist, habe ich neben die direkt erhaltenen Zahlen die sich hieraus berechnenden Werte gesetzt, wenn man die für die beiden genannten Funktionen in reinen Nährlösungen erhaltenen gleich 100 setzt, um einen besseren Vergleich der Resultate zu erzielen.

Ein Blick auf die Tabelle zeigt, daß der Unterschied in der Vermehrungsenergie zwischen Keller- und Zimmertemperatur ein sehr bedeutender ist.

Während bei Kellertemperatur die Vermehrungsenergie durch Zusätze der eigenen Gärungsprodukte der beiden Hefen eine erhebliche Einbuße erleidet, wird dieselbe bei Zimmertemperatur erhöht und zwar übten in dieser Richtung 20 Proz. der zugefügten Produkte den günstigsten Einfluß aus, da sowohl bei geringerem als erhöhtem Zusatz die Vermehrungsenergie abnahm.

Das Vermehrungsvermögen der beiden Hefen wird durch Zusatz ihrer eigenen Produkte bei Keller- und Zimmertemperatur erhöht; eine Ausnahme bildet Hefe Frohberg, deren Vermehrungsvermögen bei Zusatz von 50 Proz. der Gärungsprodukte bei Kellertemperatur auf 47,67 Proz. des Normalen herabgesetzt worden ist.

Aehnliche Verhältnisse ergeben sich auch aus Tab. 13, welche den Einfluß der wechselseitigen Gärungsprodukte auf Vermehrungsenergie und Vermögen darstellt.

Auch hier tritt in erster Linie der Unterschied zwischen Keller- und Zimmertemperatur deutlich hervor, auch hier zeigt sich eine große Erhöhung des Gärungsvermögens durch Zusatz der Gärungsprodukte, welche mehr noch in den Kellerversuchen bei Hefe Frohberg als bei den Zimmerversuchen zum Ausdruck kommt.

Bei Hefe Frohberg wirken die Gärungsprodukte von Pastorianus III auf das Vermehrungsvermögen entschieden in höherem Grade ein als die eigenen.

Tab. 14 lehrt, daß sowohl Gärungsenergie als Gärvermögen von einigen Ausnahmen, die, wie das bei solchen Versuchen wohl möglich ist, auf Zufälligkeiten zurückzuführen sein dürften, durch Zusatz der eigenen Gärungsprodukte erheblich beeinträchtigt werden.

Etwas anders dagegen verhalten sich die Hefen ihren gegenseitigen Gärungsprodukten gegenüber; hier sehen wir, daß bei den Kellerversuchen die Gärungsenergie von Pastorianus III durch 5 Proz. Frohberg-Produkte eine außerordentliche Zunahme er-

führt, die aber mit Erhöhung des Zusatzes abnimmt, aber immer noch recht bedeutend ist.

Hefe Frohberg erleidet bei Kellertemperatur und 5 Proz. Gärungsprodukte von Pastorianus III eine Einbuße ihrer Gärungsenergie um mehr als 50 Proz., während Zusätze von 20 und 50 Proz. eine Steigerung, wenn auch nicht in dem Maße, als sie die Gärungsprodukte von Frohberg bei Pastorianus III veranlaßten, bewirkt.

(Schluß folgt.)

Beitrag zur Kenntnis der Rostpilze.

Von **Ernst Jacky,** Schweiz. agrikulturchem. Anstalt, Bern-Liebefeld, Schweiz.

Bei der gegenwärtigen Kenntnis der Rostpilze muß jeder Beitrag zur Entwickelungsgeschichte, besonders wenn er sich auf Experimente stützt, von Interesse sein; denn nicht nur ist die Artbegrenzung aufs engste mit den biologischen Verhältnissen verbunden, sondern es lassen sich manche Fragen ohne Kulturversuche überhaupt nicht entscheiden. Es lag mir deshalb nahe, die seiner Zeit am botanischen Institut in Bern begonnenen Studien fortzusetzen und zugleich auch neue Arten mit in die Untersuchung einzubeziehen. Die Versuche, über welche im Nachfolgenden Bericht erstattet werden soll, wurden in den Jahren 1899—1902, teils an der botanischen Abteilung der Versuchsstation des Königl. Pomologischen Instituts zu Proskau, teils in Bern ausgeführt. In allen Fällen gelangten, soweit nicht etwas Gegenteiliges bemerkt wird, Topfpflanzen zur Verwendung, die jeweils in einem Glashaus oder in geschlossenem Raume standen. Was die Versuchsanstellung anbelangt, so verweise ich auf meine 1899 erschienene Arbeit [1]).

Bern, im Oktober 1902.

1. Puccinia Bardanae Corda [2]).

Nachdem ich schon früher (l. c. p. 60) die auf Lappa-Arten auftretende Puccinia Bardanae Corda auf Grund ihres morphologischen Verhaltens von Puccinia Cirsii Lasch als selbständige Art abgetrennt hatte, verblieb mir noch die Aufgabe, die Berechtigung dieser Abtrennung auch in Kulturversuchen nach-

---

1) Jacky, Ernst, Die Compositen-bewohnenden Puccinien vom Typus der Puccinia Hieracii und deren Spezialisierung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. IX. 1899.)

2) Eine kurze, auf die nachstehenden Versuche Bezug nehmende Notiz findet sich in Jacky, Ernst, I. Beitrag zur Pilzflora Proskaus. p. 17, Sonderdruck aus 78. Jahresber. der Schlesischen Ges. für vaterländ. Kultur. 1901.

zuweisen. Infolge Fehlens des nötigen Impfmaterials war ich damals die Infektionsversuche schuldig geblieben. In den Jahren 1899 und 1900 war ich nunmehr in der Lage, dieselben nachzuholen.

I. Versuch.

Am 28. Juli 1899 wurden mit Uredo-Sporen von Puccinia Bardanae Corda auf Lappa minor, in der Nähe von Oppeln (Ober-Schlesien) durch Herrn Dr. R. Aderhold gesammelt, folgende Pflanzen geimpft:

I 1. Lappa minor.
I 2. " "
I 3. " "
I 4. Cirsium rivulare.
I 5. " "
I 6. Cirsium lanceolatum.
I 7. Cirsium arvense.

Am 7. August wurden auf den drei Lappa-Pflanzen (I 1, I 2, I 3) zahlreiche gelbe, pustelartig sich von der Blattfläche erhebende Verfärbungen wahrgenommen, die 2 Tage später sich als deutliche Uredo-Lager erkennen ließen. Alle übrigen Versuchspflanzen (I 4, I 5, I 6, I 7) blieben dauernd rostfrei, wie auch nicht-geimpfte Kontrollpflanzen von Lappa minor.

II. Versuch.

Im Jahre 1900 wurde der Versuch wiederholt. Als Infektionsmaterial dienten im Oktober 1899 in Dombrowka bei Groß-Schimnitz (Ober-Schlesien) gesammelte Teleutosporen von Puccinia Bardanae Corda auf Lappa minor. Damit wurden am 5. Mai 1900, nachdem ein vorher angestellter Versuch auf Objektträgern die Bildung zahlreicher Basidiosporen ergeben hatte, folgende Pflanzen geimpft:

II 1. Lappa minor.
II 2. " "
II 3. " "
II 4. Cirsium rivulare.
II 5. Cirsium eriophorum.
II 6. Cirsium lanceolatum.
II 7. Taraxacum officinale.

Nach 11-tägiger Inkubationsdauer, am 16. Mai, waren alle drei Lappa (II 1, II 2, II 3) über und über mit Pykniden bedeckt, denen ein süßlicher Geruch entströmte. Am 23. Mai zeigten sich blattoberseits die ersten Uredo-Lager, die, wie dies schon von Bubák[3]) angegeben wird, in kreisförmiger Lage um die Pykniden angeordnet sind. Wenn aber Bubák (l. c.) weiter schreibt: „Auf

3) Bubák, Franz, Resultate der morphologischen Durchforschung Böhmens im Jahre 1898. (Sitzungsber. der Königl. böhm. Ges. der Wissensch. Mathemat.-naturwissenschaftl. Kl. 1899. p. 15.)

Lappa wurden diese primären Uredohäufchen von Herrn Direktor Kabát zum erstenmale beobachtet, so daß es jetzt feststeht, daß die Puccinia von dieser Compositengattung zu Puccinia Cirsii Lasch gehört, indem sie auch morphologisch mit derselben übereinstimmt", so muß dazu bemerkt werden, daß dieser primäre, oft kreisförmig angeordnete Uredo keine besondere Eigentümlichkeit, weder dieser Species noch auch von Puccinia Cirsii ist; es kommen diese primären Lager vielmehr bei zahlreichen Puccinien vor. Sie lassen sich daher auch durchaus nicht als Merkmal benutzen, um Puccinia Bardanae mit Puccinia Cirsii zu identifizieren. — In unserem Versuche folgten diesen primären Lagern, die über die ganze Blattspreite ober- wie auch unterseits verbreiteten kleineren sekundären Uredolager, und hernach erfolgte normalerweise die Bildung der Teleutosporenlager.

Aus diesen beiden Versuchen ergiebt sich, daß Puccinia Bardanae Corda auf Lappa spezialisiert zu sein scheint, und daß sie nicht auf Cirsium rivulare, C. lanceolatum, C. eriophorum, C. arvense und Taraxacum officinale zu leben imstande ist.

Keinen Aufschluß erhielten wir auf die Frage, inwieweit die auf verschiedenen Lappa-Arten auftretenden Puccinien identisch sind. Morphologisch sind sie nicht zu unterscheiden, und es ist wahrscheinlich, daß sie sich auch biologisch gleich verhalten; doch bleibt dies experimentell zu bestätigen.

2. Puccinia Cirsii lanceolati Schröt. und Puccinia Cirsii eriophori Jacky.

In meiner Arbeit über Compositen-bewohnende Puccinien[1]) hatte ich Puccinia Cirsii eriophori auf Cirsium eriophorum hauptsächlich auf Grund ihres biologischen Verhaltens und ebenso infolge kleiner morphologischer Eigentümlichkeiten als selbständige Art aufgestellt. Nunmehr mußte es auch wünschenswert sein, zu erfahren, wie sich die nahe verwandte Puccinia Cirsii lanceolati auf Cirsium lanceolatum in Kulturversuchen hinsichtlich ihrer Auswahl der Nährpflanzen sowie hinsichtlich ihrer ganzen Entwickelung verhalten würde. In den Jahren 1900 und 1901 hatte ich Gelegenheit, diese Frage zu untersuchen.

III. Versuch.

Mit Teleutosporen von Puccinia Cirsii lanceolati Schröt. von Cirsium lanceolatum stammend, die ich am 1. Oktober 1899 in Dombrowka bei Groß-Schimnitz (Ober-Schlesien) gesammelt hatte, wurden am 7. Mai 1900 folgende Pflanzen besäet:

III 1.	Cirsium eriophorum.	Zweijährige aus Samen erzogene Pflanzen.
III 2.	„ „	
III 3.	„ „	Diesjährige Sämlinge.

III 4.	Cirsium lanceolatum.	Diesjährige Sämlinge.
III 5.	„ „	Junge aus dem Freien in
III 6.	„ „	Töpfe verpflanzte Exempl.
III 7.	„ oleraceum.	Schon längere Zeit in Töp-
III 8.	„ arvense.	fen kultiviert.

Ein gleichzeitig angesetzter Versuch auf Objektträgern ergab die Bildung zahlreicher Basidiosporen. Am 21. Mai (Inkubationszeit 15 Tage) trugen sämtliche Cirsium lanceolatum (III 4, III 5, III 6) zahlreiche gelbliche leicht vorgewölbte Stellen, die sich am 25. Mai als Pykniden erkennen ließen. Dieselben stehen in Gruppen meist blattoberseits, weniger häufig unterseits und besitzen ellipsoidische Gestalt und messen ca. $165 \times 192 \mu$. Es entströmt ihnen ein intensiver Geruch nach Ligusterblüten. Am 30. Mai traten sodann auf sämtlichen Cirsium lanceolatum vorwiegend blattunterseits zahlreiche Accidien auf, deren Bau ich später noch besprechen werde.

Erst am 6. Juni (Inkubationszeit 30 Tage) konstatierte ich an einigen Blättern zweier Cirsium eriophorum (III 1, III 3) vereinzelte Pykniden und unterseits spärliche Accidien. III 2 ist dagegen nicht befallen.

Am 11. Juni traten sodann auf allen Cirsium lanceolatum die ersten Uredo-Lager auf. Am 21. Juli trug auch eine Pflanze von Cirsium eriophorum (III 3) ganz spärliche Uredo-Lager. Die beiden anderen Cirsium eriophorum (III 1, III 2) waren dagegen gesund; dauernd rostfrei blieben auch die beiden übrigen Versuchspflanzen (III 7, III 8).

Da die weitere Entwickelung des Pilzes bekannt ist, wurde der Versuch hiermit abgeschlossen. Es hat sich daraus ergeben, daß Puccinia Cirsii lanceolati Schröt., von Cirsium lanceolatum stammend, außer Cirsium lanceolatum auch Cirsium eriophorum befallen kann, wenngleich hier die Erkrankung bedeutend später, weniger intensiv und nicht in allen Fällen auftritt. Dagegen vermag Puccinia Cirsii lanceolati nicht auf Cirsium oleraceum und Cirsium arvense zu leben.

IV. Versuch.

Zur Prüfung der Ergebnisse des III. Versuches wurde im Jahre 1901 eine Wiederholung vorgenommen. Als Infektionsmaterial dienten im November 1900 in Proskau gesammelte Teleutosporen von Puccinia Cirsii lanceolati Schröt. auf Cirsium lanceolatum. Damit wurden am 30. April 1901 folgende Pflanzen besäet:

IV 1.	Cirsium lanceolatum.	Zweijährige Sämlings-
IV 2.	„ „	pflanzen.
IV 3.	Cirsium eriophorum.	Sechs zweijähr. Sämlingspfl.
IV 4.	„ „	Aeltere Topfpflanzen.
IV 5.	„ „	

Ein Parallelversuch auf Objektträgern ergab Bildung zahlreicher Basidiosporen.

Am 11. Mai (Inkubationszeit 12 Tage) trugen beide Cirsium lanceolatum (IV 1, IV 2) äußerst zahlreiche Pykniden. Schon am 13. Mai läßt sich an einem Blatte von Cirsium eriophorum (IV 3) eine Stelle mit Pykniden nachweisen. Am 15. Mai finden sich Pykniden auch auf IV 4. Eine am 24. Mai vorgenommene genaue Prüfung ergab für IV 3 folgenden Befund: Von den sechs Pflanzen finden sich drei mit je einem Blatt, auf welchem sich oberseits je im Maximum fünf Pyknidengruppen befinden. Für IV 4 ergab sich: Ein Blatt mit verhältnismäßig zahlreichen Pykniden. Auf IV 5 waren Pykniden nicht nachweisbar.

Da weiterhin die beiden Cirsium lanceolatum eingingen und die übrigen Pflanzen infolge Abreise von Proskau nicht mehr beobachtet werden konnten, mußte hier der Versuch abgebrochen werden. Der obige Befund genügt indes zum Beweis, daß Puccinia Cirsii lanceolati Schröt., von Cirsium lanceolatum stammend, die Fähigkeit besitzt, in geringem Grade auch Cirsium eriophorum zu infizieren. Es steht dieser Versuch somit in Uebereinstimmung mit dem Versuch III. In beiden Fällen zeigte sich ein intensiver Erfolg auf Cirsium lanceolatum nach 12—15 Tagen; erst einige Zeit später, nach 14—30 Tagen, von der Infektion an gerechnet, werden auch einige Cirsium eriophorum in geringem Maße befallen.

Man kann daher annehmen, daß Puccinia Cirsii lanceolati eine Art ist, die im Begriffe steht, sich auf Cirsium lanceolatum zu spezialisieren, daß sie indessen die Fähigkeit noch nicht vollständig eingebüßt hat, gelegentlich auch auf Cirsium eriophorum zu leben. Interessant ist hierbei die Mitteilung Bubáks[4]), daß er durch wiederholte Infektionsversuche zu der Ueberzeugung gelangte, „daß die Aecidien von Puccinia Cirsii lanceolati Schröt., Cirsium eriophorum und jene von Puccinia Cirsii eriophori Jacky wieder Cirsium lanceolatum nicht zu infizieren vermögen. Auch Herr Direktor Kabát . . . kam zu demselben Resultate . . .“ Wir hätten somit hier die interessante Thatsache vor uns, daß die Teleutosporen resp. die Basidiosporen von Puccinia Cirsii lanceolati auf Cirsium lanceolatum gelegentlich Cirsium eriophorum noch zu infizieren imstande sind, daß dagegen die Aecidiensporen des genannten Pilzes nicht mehr in Cirsium eriophorum einzudringen vermögen.

Da ich in meinen früheren Versuchen[1]) mit Puccinia Cirsii eriophori, von Cirsium eriophorum stammend, in keinem Falle Cirsium lanceolatum infizieren konnte und da auch die von Bubák (l. c.) und Kabát mit Aecidiensporen ausgeführten Infektionen negativ ausgefallen sind, so ist anzunehmen,

---

4) Bubák, Fr., Ueber einige Compositen-bewohnende Puccinien. (Oesterr. bot. Zeitschr. Jahrg. 1902. Nr. 2 u. ff.)

daß Puccinia Cirsii eriophori vollständig auf Cirsium eriophorum spezialisiert ist. Ob man nun Puccinia Cirsii eriophori nur als biologische Form von Puccinia Cirsii lanceolati oder als selbständige Art auffassen will, bleibt sich meines Erachtens gleich. Die kleinen morphologischen Unterschiede, auf die ich seiner Zeit hingewiesen habe und die von Bubák (l. c.) bestätigt werden, dürften eher für die letztere Auffassung sprechen.

Zum Schlusse möchte ich noch kurz auf den Bau des Aecidium und die Stellung des Pilzes zu sprechen kommen. In Bestätigung meiner früheren Untersuchungen [1]) an Puccinia Cirsii eriophori und in Uebereinstimmung mit Bubák (l. c.) kann ich bei den Aecidien von Puccinia Cirsii lanceolati und Puccinia Cirsii eriophori ein Pseudoperidium nicht erkennen. Lindroth [5]) spricht zwar von einem rudimentären Pseudoperidium, dessen Zellen „äußerst locker miteinander zusammenhängen und darum auch eine sehr an die Sporen erinnernde Form bekommen". Dies mag wohl für Puccinia Prenanthis und Konsorten der Fall sein, nicht jedoch für Puccinia Cirsii lanceolati und eriophori. Infolge Fehlens des Pseudoperidium betrachtet Bubák (l. c.) die erste Sporenform als ein Caeoma. Ich glaube indes, daß das becherförmige, scharf begrenzte Auftreten der meist tief eingesenkten Sporenbehälter, sowie der Umstand, daß auch die Pykniden nicht etwa in unbegrenzten Lagern, sondern als ellipsoidische wohlbegrenzte Gehäuse auftreten, in deren Innerem wie schon Lindroth (l, c.) nachweist, sich die Sterigmen deutlich von der Peripherie nach dem Centrum richten, eher für ein Aecidium spricht. Das Fehlen des Pseudoperidium weist freilich auf die nahe Verwandtschaft mit Caeoma hin, und wir haben es somit mit einem auf der Grenze zwischen Aecidium und Caeoma stehenden Gebilde zu thun. Infolge dieses Umstandes hielt Bubák (l. c.) es für gerechtfertigt, eine neue Gattung, für die er den Namen Jackya wählte, aufzustellen. Nun sind aber die Puccinien von Cirsium lanceolatum, eriophorum und intermedium in ihrem ganzen Auftreten so nahe verwandt mit den Puccinien vom Typus der Puccinia Hieracii, daß mir ein Herausreißen aus diesem Verwandtschaftskreis einzig infolge des fehlenden Pseudoperidium nicht gerechtfertigt erscheinen will.

3. Puccinia Violae (Schum.) DC. [6]).

Wiewohl die Entwickelungsgeschichte dieses auf verschiedenen Viola-Arten schmarotzenden Rostpilzes bekannt schien, war es doch von Interesse, zu deren experimenteller Feststellung mit dieser Art einen Impfversuch anzustellen, zumal Kulturversuche mit

5) Lindroth, J., I. Mykologische Mitteilungen. (Acta societatis pro fauna et flora fennica. XX. 1901. No. 9. p. 9.)

6) Eine vorläufige Mitteilung findet sich in: Arbeiten der botanischen Abteilung der Versuchsstation des Kgl. pomologischen Institutes zu Proskau. III. Bericht. (Centralbl. f. Bakteriol., Paras. u. Inf.-Krankh. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 659.)

Puccinia Violae meines Wissens bis jetzt noch nicht ausgeführt worden sind.

V. Versuch.

Mit Accidien auf den Blättern und Blattstielen von Viola odorata, die im Frühjahr in Proskau alljährlich in Menge aufzutreten pflegen, sowie mit Aecidienmaterial auf derselben Nährpflanze, aus Frankenhausen in Thüringen stammend, und von Herrn Dr. Grube-Einwald in verdankenswerter Weise zugesandt, wurden am 25. Mai 1900 zwei getrennte Impfversuche angestellt. Es wurden sowohl in Töpfen als im Freien stehende Viola odorata damit besäet. In beiden Fällen wurden am 6. Juni die ersten Uredo-Lager auf der Unterseite der Blätter beobachtet. Diesen folgten später in normaler Weise die Teleutosporenlager. Nicht geimpfte Kontrollpflanzen von Viola odorata blieben gesund.

Durch diese Versuche werden die bisher bekannten Angaben bestätigt, nach welchen das Aecidium auf Viola in den Entwickelungskreis einer Aut-eu-Puccinia gehört, welche alle Sporenformen auf derselben Nährpflanze entwickelt.

Leider mißlangen zwei weitere mit Teleutosporen dieses Pilzes angesetzte Impfversuche.

4. Puccinia Helianthi Schw.

Schon in den Jahren 1869—1871 hatte Woronin[7]) durch Kulturversuche nachgewiesen, daß der Sonnenblumenrost zu den Aut-eu-Puccinien gehöre, die Pykniden, Aecidien, Uredo- und Teleutosporen auf derselben Nährpflanze erzeugen. Ebenso hatte er gezeigt, daß der Pilz nicht identisch sein könne mit einer der Compositen-bewohnenden Puccinien wie Puccinia Hieracii, P. Lampsanae, P. Centaureae, P. obtegens, P. Cirsii u. a. m., indem Aussaatversuche, die er mit diesen Puccinien vorgenommen hatte, auf Helianthus annuus stets negativ verliefen. Umgekehrt konnte er auch Puccinia Helianthi niemals auf Taraxacum officinale, Tragopogon pratense, Lampsana communis, Hieracium umbellatum, Crepis praemorsa, Centaurea jacea, Cirsium arvense u. a. übertragen. Ferner hatte Woronin Versuche über die Uebertragbarkeit von Puccinia Helianthi von Helianthus annuus auf Helianthus tuberosus angestellt. Bei keiner der während 2 Jahren ausgeführten Infektionen, bei denen sowohl Aecidien- als auch Uredo- und Teleutosporen zur Verwendung kamen, gelang es ihm, Puccinia Helianthi von Helianthus annuus auf Helianthus tuberosus überzuimpfen. Woronin

7) Woronin, M., Untersuchungen über die Entwickelung des Rostpilzes (Puccinia Helianthi), welcher die Krankheit der Sonnenblume verursacht. (Bot. Zeitung. 1872. p. 677 ff.)

schließt daraus mit Recht, daß die Puccinia Helianthorum Schw., welche Ravenel[8]) auf Helianthus tuberosus gefunden hatte, eine selbständige Art sein müsse, die mit Puccinia Helianthi Schw. auf Helianthus annuus nicht identisch sein könne. Einige Jahre später (1874) befaßte sich Woronin[9]) mit der Frage, ob nicht Puccinia Tanaceti DC. (damals P. Discoidearum Lk.) am Ende mit Puccinia Helianthi Schw. identisch sei. Zu dem Zwecke wurde Puccinia Tanaceti von Tanacetum vulgare auf Helianthus annuus gesäet, und „dabei das evidenteste positive Resultat erhalten, daß die jungen Sonnenblumenpflänzchen durch die keimenden Teleutosporen der Puccinia Discoidearum angesteckt werden". Und zwar wird ausdrücklich erwähnt, daß nach der Bildung der Pykniden die Aecidien erschienen, daß die Keimschläuche der Aecidiensporen aufs neue in die Spaltöffnungen der Sonnenblumen drangen, um sich dort weiter in ein Mycelium zu entwickeln, welches später Uredo-Lager erzeugte. Freilich wird nachher noch hervorgehoben, daß die Ansteckung der Helianthus-Pflanzen nicht so üppig und kräftig gewesen sei, wie man dieselbe bei Teleutosporenaussaaten der echten Puccinia Helianthi wahrnehme. Will man von der Möglichkeit einer Versuchsverunreinigung absehen, so bleibt dieses Ergebnis einer positiven Uebertragung von Puccinia Tanaceti auf Helianthus annuus unerklärlich. Auf eine Identität der beiden Pilze braucht übrigens dieses Resultat nicht hinzuweisen, schon deshalb nicht, weil Puccinia Tanaceti sich morphologisch von Puccinia Helianthi unterscheidet, wie dies von Dietel[10]) seiner Zeit nachgewiesen wurde.

In neuester Zeit kommen nun P. und H. Sydow[11]) zu dem überraschenden Ergebnis, es sei Puccinia Helianthi eine Hemi-Puccinia, da seit Woronin's Versuchen auf Helianthus annuus keine Aecidien mehr gefunden worden seien, obschon der Pilz in vielen Gegenden Europas häufig auftritt, „so daß die Angaben Woronin's betreffend der Zugehörigkeit seines Aecidiums zu der Puccinia noch zweifelhaft sind. Das in Nord-Amerika auf verschiedenen Helianthus-Arten häufig auftretende Aecidium ist auch niemals mit der dort ebenfalls verbreiteten Puccinia zusammen beobachtet worden, dürfte daher also ein isoliertes Aecidium sein oder einer heteröcischen Art angehören. Nach unserer Ansicht besitzt die Art kein Aecidium."

Weil somit P. und H. Sydow auf Helianthus annuus noch kein Aecidium gesehen haben, folgern sie daraus, daß Puccinia Helianthi kein Aecidium besitze. Dieser Auffassung bin ich in der Lage, durch Kulturversuche entgegenzutreten.

VI. Versuch.

Mit Teleutosporen von Puccinia Helianthi Schw., die ich

8) Fungi Caroliani exsiccati. Fasc. II. No. 90.
9) Woronin, Ueber Puccinia Helianthi. (Bot. Zeitung. 1875. p. 340 ff.)
10) Dietel, Kurze Notiz über einige Rostpilze. (Hedwigia. 1889. p. 181.)
11) Sydow, P. et H., Monographia Uredinearum. I, 1. p. 92.

Ende Oktober 1900 auf Blättern und Hüllblättern von Helianthus annuus in Proskau (Ober-Schlesien) gesammelt hatte, wurden am 22. Mai 1901, nachdem ein Keimungsversuch die Entwickelung zahlreicher Basidiosporen ergeben hatte, folgende Pflanzen besäet:

VI 1.	Helianthus annuus.	Drei junge Sämlingspflanzen.
VI 2.	„ cucumerifolius.	Fünf junge Säuglingspflanzen.
VI 3.	„ californicus.	Zehn junge Säuglingspflanzen.
VI 4.	„ tuberosus.	Aus dem Staudenquartier des Kgl. Pomologischen Instituts in Töpfe verpflanzt.
VI 5.	„ Maximiliani.	
VI 6.	„ multiflorus.	
VI 7.	„ scaberimus[12]).	
VI 8.	„ rigidus[12]).	

Am 30. Mai (Inkubationsdauer 9 Tage) zeigten mehrere Pflänzchen von Helianthus annuus (VI 1) und Helianthus cucumerifolius (VI 2) und einen Tag später auch diejenigen von Helianthus californicus (VI 3) zahlreiche Pykniden. Dieselben sind goldgelb, messen durchschnittlich 100–150 μ im Durchmesser und sitzen in größeren oder kleineren Gruppen auf der Blattoberseite. Auf sämtlichen übrigen Helianthus-Arten war ein Erfolg nicht eingetreten. Am 1. Juni begannen die Helianthus cucumerifolius infolge übermäßiger Feuchtigkeit abzusterben. Am 11. Juni trugen die Helianthus annuus und Helianthus californicus reichlich Aecidien; dieselben stehen in runden Gruppen blattunterseits sowie auf Blattstielen und Stengeln. Am 17. Juni zeigten die H. annuus, am 21. Juni auch die H. californicus die ersten Uredo-Lager, und zwar finden sich dieselben ober- wie unterseits, sowohl an Blättern, die erst Aecidien getragen hatten, als auch an den neugebildeten nächstoberen Blättern. Der Pilz scheint von unten nach oben fortzuschreiten und es sterben die älteren Blätter successive ab. Alle anderen Arten, wie H. tuberosus, Maximiliani, multiflorus, scaberrimus und rigidus waren dauernd rostfrei geblieben. Die nicht geimpften Kontrollpflanzen standen in einem Beet, das direkt vor dem Glashaus lag, in welchem der Versuch ausgeführt wurde. Bis zum 22. Juli waren sie gesund geblieben, von diesem Tage an zeigten sich jedoch an H. annuus und H. cucumerifolius anfangs spärliche, später reichliche Uredo-Lager. Die anderen Arten blieben dagegen gesund. Diese nachträgliche Infektion kann nicht befremden, wenn man bedenkt, daß die Kontrollpflanzen nur 1—2 m von den im tagsüber offenstehenden Glashause befindlichen infizierten Versuchspflanzen standen und somit eine Uebertragung durch den Wind leicht möglich war. Mitte September traten dann auf den Versuchspflanzen H. annuus und H. californicus die ersten Teleutosporen auf, zu welchem Zeitpunkt der Versuch abgeschlossen wurde. (Schluß folgt.)

12) Ob nicht diese beiden Namen Synonyme sind?

Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Bacteriological Laboratory of the Linnean Society of New South Wales.

By **R. Greig Smith**, Sydney.

The gummosis of the sugar-cane[1]).

Since Cobb investigated the gummosis of the sugar-cane and found microbes in the gum of diseased stalks, nothing appears to have been done with the bacteriology of this disease. Cobb infected gelatine and agar media with the gum and described the growth obtained thereby. He also infected stalks of sugar-cane with the gum but the results of these infections were unsatisfactory and inconclusive.

The disease therefore required re-investigation and I determined to separate the active bacterium and prove its relation to the disease by making it produce gum in the laboratory. The bacterial gum could then be compared with the cane-gum gathered from diseased plants. This appeared to be a more satisfactory and decisive method of proving the pathogenicity of the organism than by means of plant infections.

From minute drops of gum exuded from the cut vascular bundles, a bacterium was isolated by plate culture upon neutral cane-juice gelatine. On this and other suitable solid media, the organism forms a yellow slime and by using faintly acid cane-juice agar a quantity of the slime was obtained. The chemical reactions of the bacterial slime were identical with the reactions of cane-gum and it made no difference whether or not the slime was freed from the bacteria by filtration through porcelain. Since the slime is identical with cane-gum, the active cause of gummosis is proved to be the organism for which I have retained Cobb's name, Bacterium vascularum. It is also obvious that the gum is not a pathological secretion of the plant and that the disease is produced by the multiplication of the bacteria in the vessels of the vascular bundles.

Both slime and gum give precipitates with lead acetate, basic lead acetate, ammoniacal lead acetate, barium hydrate, calcium hydrate, copper sulphate, ferric chloride, alcohol, aluminium hydrate, glacial acetic acid, sulphuric and phosphotungstic acids, hydrochloric acid and potassium-mercuric iodide. An opalescence is obtained with dilute hydrochloric acid, dilute acetic acid, acetic and tannic acids, acetic acid and potassium ferro-cyanide. The xanthoproteic reaction was positive but neither the biuret nor the Adamkiewicz reaction was obtained. Precipitates were not

1) Proceedings of the Society. 1902. Part 1.

formed with silver nitrate, barium chloride potassium hydrate, sodium hydrate, strong hydrochloric acid, picric acid; iodine gave no reaction. Acid mercuric nitrate gave a precipitate soluble in excess. The precipitate with alcohol is exceedingly voluminous and stringy and is only obtained in presence of salts.

The bacterium is aerobic, is activelly motile, has a single terminal flagellum and measures 0,4 : 1 μ. It is not stained by the Gram method and does not form spores. It grows slowly upon suitable media. In the absence of carbohydrates, the cultures are always scanty and in faintly acid fluids such as cane-juice or wort there is no growth. The colonies on the surface of saccharose, levulose or dextrose media are like little drops of soft yellow bees' wax. Gelatine is slowly liquefied or consumed under the growth. In cane gelatine stroke, the culture slowly gravitates and in doing so, collects in places producing a "tear-drop" appearance.

Experiments with the organism showed the optimum temperature to be 30°. The most favourable proportion of peptone is about 0,5 per cent; saccharose, levulose or, in less degree, dextrose is necessary; potassium phosphate is essential and agar media must be faintly acid (10 ccm = 0,14 ccm N/10 acid, phenolphthalein).

An ascobacterium from the sugar-cane, with notes upon the nature of the slime.

During the investigation into the gummosis of the sugar-cane, an organism was met with great frequency: in fact so often was it found that it cannot but be regarded as a normal inhabitant of the cane. It occurred in healthy as well as diseased canes and in different varieties of cane. In the presence of saccharose, dextrose, levulose or maltose it formed well defined asci upon solid media.

There are many races of the bacterium (Bacterium sacchari n. sp.): the normal race slowly liquefies gelatine and forms pale yellow or cream coloured colonies and growths except upon potato when they are deep yellow. The organism is a motile short rod and measures 0,6: 1,2 μ. The flagella are peritrichous and vary from 1 to 9; Gram's stain is negative and no spores are formed. The colonies are generally round, raised and glistening, but the most distinctive character is the production of the asci in the presence of sugar.

The slime, as obtained by growing on large plates of saccharose agar or better cane-agar, swells up with water and can then be easily removed. The swollen slime has the consistency of white of egg and can be separated from the bacteria by heating in the autoclave at three atmosphere pressure. The clear viscous solution is precipitated by alcohol but at the same time the outside of the floccules is made insoluble so that the precipitate simply swells up with water forming a clear unfilterable emulsion. Alcohol precipitates the slime only in presence of salts.

The reactions of the slime indicated that it had relations with the carbohydrates and the proteids but as the nitrogen was less than 2 per cent it could not be related to the mucins. Since it yielded furfural on treatment with acid it is a pentosan and on hydrolysis a reducing sugar (pentose) which yielded an osazone with a melting point of 153° was obtained.

A gum (Levan) bacterium from a saccharine exudate of Eucalyptus Stuartiana.

A sweet exudate was found exuding from the bark of a specimen of Eucalyptus Stuartiana F. v. M. It consisted of raffinose (Eucalyptus manna), mixed reducing sugars and a gum. The gum had all the characters of levan which I have shown to be the product of the action of Bac. levaniformans on saccharose, (this Centralblatt. Vol. VIII. p. 596). Colonies characteristic of many gum bacteria developed on saccharose media when infected with the exudate and the bacteria in three samples of exudate collected at different times, were practically in pure culture.

The organism is an actively motile, non-sporulating bacterium, measuring 0,5 : 1 μ and has 1—9 peritrichous flagella. The colonies on ordinary gelatine and agar are small white and uncharacteristic. Gelatine is slowly liquefied. On saccharose the colonies and growths are luxuriant and like thin starch paste. Saccharose-peptone fluid becomes strongly opalescent, at first white but afterwards brownish. From this culture the gum can be obtained in quantity. These and other cultural characters show that the bacterium is apparently new and I have named it Bacterium eucalyti.

The action of the bacterium upon saccharose is precisely similar to the action of Bac. levaniformans. Not only are the same products formed but they are produced in the same relative quantities; the table showing the action of Bac. levaniformans on saccharose (VIII, 597) applies also to Bact. eucalypti. Furthermore the acids that are produced are identical. The gum is also hydrolysed in old cultures by the action of the secreted acids. Invertase is likewise secreted.

The acids in chalk-saccharose cultures are produced from the reducing sugars, since the quantities of saccharose and gum are identical with those in cultures without chalk, while the reducing sugars are much less. Raffinose and saccharose are the only two commonly occuring sugars from which levan can be formed. This can be explained by the fact found with Bac. levaniformans that the gum is formed chiefly from nascent levulose.

Institut für Gärungsgewerbe, Berlin.

Schönfeld, F. und **Rommel, W.**, Untersuchungen über ein Trübungen im Lagerbier verursachendes Stäbchenbakterium (Bacillus fusciformis). (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XIX. No. 40.)

Die Beobachtungen, welche in der Versuchs- und Lehrbrauerei mit den dort abgezogenen Flaschenbieren während eines längeren Zeitraums gemacht worden waren, führten zur näheren Charakterisierung eines Stäbchenbakteriums, welches häufig in diesen Bieren eine nach durchschnittlich 4 Wochen eintretende opalisierende Trübung verursacht.

Diese Stäbchen besitzen im Bier eine Länge von 2,8—21 μ, die durchschnittliche Länge einer größeren Anzahl derselben betrug nach Messungen 6,5 μ, die durchschnittliche Breite 0,5 μ. Die Stäbchen sind meistens gerade oder schwach gekrümmt, häufig sind geknickte Formen. Meistens kommen die Bakterien einzeln vor, weniger oft ein Zusammenhängen zu zweien oder dreien.

Größere Zellketten wurden nicht beobachtet. In Würze oder auf festem Nährboden erreichen die Bakterien nur eine Länge von etwa 2 μ, im hängenden Tropfen wachsen sie zu vielfach gewundenen Fäden aus, welche nach wenigen Tagen in Stücke von 2 bis 3 μ Länge zerfallen. Diese Stücke haben das Bestreben, sich nebeneinander zu legen und bilden so ein Bündel, dessen einzelne Teile parallel verlaufende Längsachsen zeigen.

Die Bakterien wachsen in der Plattenkultur außerordentlich langsam. Auffallend ist die Beeinflussung der Länge der Stäbchen durch die Höhe des Alkoholgehalts des ihnen als Nährboden dienenden Bieres. Es entstehen auf diese Weise in einem Bier, dessen Alkoholgehalt auf 10 Proz. gesteigert worden ist, ungegliederte Bakterienfäden von bis zu 24,8 μ Länge. Ein höherer Alkoholgehalt verhindert das Wachstum.

Das Temperaturoptimum für das Wachstum dieser Bakterien im Bier liegt bei 27° C, Temperaturen über 35° und unter 12° verhindern bei Versuchen mit künstlichen Einimpfungen die Entstehung von Bakterientrübungen.

Pasteurisierungstemperaturen oberhalb 45° töten die Bakterien ab.

Nicht jedes Bier giebt für die Bakterien einen gleich guten Nährboden ab, die stark dunklen Biere zeigten nach den Einimpfungen eine nicht so auffällige Trübung wie die hellen und wurde durch einen Versnch festgestellt, daß der Verwendung erheblicher Mengen von Farbmalz ein hemmender Einfluß auf die Entwickelung der Bakterien zuzusprechen ist.

Luftzutritt oder Luftmangel beeinträchtigt bei sonst gleichen Bedingungen in keiner Weise das Wachstum der Bakterien, dasselbe wird auch durch Austrocknung nicht verhindert, dagegen wird die Virulenz hierdurch vermindert.

Die Bakterien verursachen in Weizenmalzwürze eine geringe Vergärung, in Weizenmaische 0,93 Proz. Säure, im Bier beträgt die Säuremenge höchstens 0,45 Proz.

Die stark bakterienschädliche Wirkung von in Petroläther löslichen Hopfenextraktionsstoffen zeigte ein Versuch, der mit Bieren vorgenommen wurde, welche verschieden starke Gaben eines solchen Extrakts enthielten. Die Zugabe von 0,08 g des Hopfenweichharzes in 300 ccm Bier wurde von den eingeimpften Bakterien

gerade noch vertragen, höhere Zugaben ließen kein Wachstum mehr aufkommen.

Ebenfalls von höchst schädigendem Einfluß auf die Bakterien ist die Weinsäure, z. B. tötet eine 6-stündige Behandlung mit 0,6 proz. Weinsäurelösung die Bakterien.

Sehr gut wachsen die Bakterien in gehopfter und ungehopfter Würze, in Lösungen von Rohrzucker, Dextrin und Pepton dagegen gelang es nicht, sie in einer 0,5-proz. Asparaginlösung zum Wachsen zu bringen.

Die Bakterien verschlechtern den Geschmack des Bieres nur unbedeutend durch die geringe Zunahme an Säure, am Geruch ist keine Aenderung wahrzunehmen, der hauptsächlich in Betracht kommende, durch die Bakterien im Bier hervorgerufene Uebelstand ist die Trübung.

Der Bacillus fusciformis unterscheidet sich von dem Saccharobacillus Pastorianus van Laer und anderen im Bier gefundenen säurebildenden Bakterien, mit denen er allerdings auch manche Eigenschaften gemeinsam hat, hauptsächlich durch das Fehlen der Zellketten, die Menge der produzierten Säure, das Fehlen der Flockenbildung an den Gefäßwandungen in flüssigen Nährböden, die Art des Wachstums und Zerfalls der Kolonieen im hängenden Tropfen, das Wachstum auch in dunklen Bieren und in gehopfter Würze und durch die mit steigendem Alkoholgehalt zunehmende Länge der Zellfäden. Rommel.

Referate.

Emmerling, O., Die Zersetzung N-freier organischer Substanzen durch Bakterien. 141 p. Mit 7 Lichtdrucktafeln. Braunschweig (F. Vieweg u. Sohn) 1902. 4 M.

Die Spaltung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure durch Hefe, welche unter dem Namen alkoholische Gärung bekannt ist, bildet allerdings die am genauesten studierte unter den Gärungserscheinungeu; allein sie ist nicht die einzige, da neben den Sproßpilzen bekanntlich auch andere Vertreter der niederen Pflanzenwelt ähnliche Prozesse einzuleiten und durchzuführen imstande sind, deren Endprodukte außerordentlich verschieden sind. Außer gewissen Schimmelpilzen treten zahlreiche Bakterien als solche Gärungserreger auf; sie spielen vielfach eine sehr wichtige Rolle und ihre Verbreitung in der Natur wie auch vor allem ihre Bedeutung für bestimmte Zweige der menschlichen Thätigkeit sind sehr wohl geeignet, unser Interesse zu erregen und wachzuhalten. Gerade die Bakterien spalten und zertrümmern die komplizierten

chemischen Verbindungen in einfachere Stoffe, ja selbst bis zur Elementarform; sie bereiten aber auch bekanntlich durch ewiges Umwandeln die Körper anderen Organismen zur Ansiedelungsstätte oder zur Nahrung vor.

Unter den Bakterien sind nun ganz besonders diejenigen interessant, welche die wichtige Klasse der Kohlehydrate in mannigfacher Weise anzugreifen und zu zersetzen vermögen; auch liegen hier die Verhältnisse um vieles einfacher und lassen sich weit besser übersehen, als etwa bei den Eiweißkörpern; jene Zersetzungen haben aber obendrein zugleich eine eminente, praktische Bedeutung. In der Technik, in der Landwirtschaft, im Haushalte, überall wo jene Stoffe zur Verwendung kommen, sind wir auf Bakterienthätigkeit angewiesen; wir müssen mit diesen Organismen rechnen und unter Umständen gegen dieselben ankämpfen.

Seine Entstehung verdankt nun das vorliegende Werkchen einer Reihe von Vorlesungen, die Verf. meist vor Chemikern über Bakteriengärungen, insbesondere auch über die Zersetzung N-freier organischer Substanzen durch Bakterien gehalten hat. Es wird demgemäß folgendes behandelt:

I. Oxydationsgärungen, und zwar
die Essiggärung, weiterhin diejenigen
Oxydationsgärungen, welche durch das Bact. xylinum hervorgerufen und endlich
andere Oxydationsgärungen, wie beispielsweise die Oxalsäure-, Citronensäure-, Ameisensäuregärungen u. a. m.

II. Milchsäuregärung, und zwar
die Milchsäuregärung in landwirtschaftlichen und industriellen Betrieben und
die Kefirgärung; weiterhin werden
andere aus Milch bereitete Getränke erörtert. Alsdann wird
die Milchsäuregärung bei der Futterbereitung,
dem Einmachen von Gemüsen, Obst u. s. w.,
von technischen Betrieben ihre Anwendung in der Gerberei, ferner
die Milchsäuregärung in den Gärungsgewerben, sowie
die Gärung des Brotes besprochen.

III. Die schleimige Gärung.
Leuconostoc und ähnliche Schleimbildner (Mannitgärung, teilweise mit Schleimbildung verbunden; schleimige Milch, fadenziehendes Brot; schleimige Tinte; schleimiger Harn u. a. m.).

IV. Buttersäuregärung und
Butylalkoholische Gärung.

V. Cellulosegärung. Schließlich werden noch

VI. einige z. T. wenig oder überhaupt nicht aufgeklärte Gärungen besprochen (z. B. die Vergärung von Glycerin, Mannit, Dulcit, Ameisensäure, Essigsäure, Weinsäure, Apfelsäure, Milchsäure, Oxalsäure, Citronensäure etc.).

Das vorliegende Werkchen ist allerdings zunächst für Chemiker bestimmt, denen es in möglichst knapper Form auch diejenigen Einzelheiten bieten soll, welche in einer Vorlesung oftmals nicht weiter berücksichtigt werden können. Es wird jedoch auch

manchem Gärungsphysiologen und Bakteriologen, auch Gärungstechnikern willkommen sein, zumal es bislang an einer kurzgefaßten Darstellung und Beleuchtung dieser für die beteiligten wissenschaftlichen und technischen Kreise gleich wichtigen Fragen noch fehlte. Wir haben in dem Buche zugleich eine wertvolle Zusammenstellung der einschlägigen Litteratur vor uns, die natürlich keineswegs vollständig sein will, sondern zn welcher im Gegenteil überall möglichst nur die wichtigsten Daten zur Besprechung herangezogen sind. Für die Gediegenheit des Inhalts bürgt der Name des Autors, der ja mit dem Stoffe hinlänglich vertraut ist, und auch selbst schon manchen Beitrag zur weiteren Aufklärung der vorliegenden, wie auch ähnlicher Fragen, geliefert hat. Dem Büchlein sind außerdem einige Lichtdrucktafeln beigegeben, die uns einige spezielle Bakterienphotogramme vor Augen führen. Im übrigen muß bezüglich vieler interessanter Einzelheiten auf das Buch selbst verwiesen werden. Heinze (Halle a. S.).

Abraham, Leuconostoc in Rübensäften. (Centralblatt für Zuckerindustrie. Bd. X. 1902. p. 886, 935, 978.)

Es wurden bereits einige Mitteilungen (cf. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. 1902. H. 16) über die Bekämpfung des sogenannten Froschlaichpilzes — Leuconostoc mesenteroides —, in Rübensäften gebracht, wozu von Abraham unter anderem auch das Bestreichen der Diffuseure mit fein gepulvertem Flußspate empfohlen wird. Auch nach der Ansicht des Ref. dürfte jedoch eine genügende Lösung des Flußspates im saueren Safte der Rüben und eine damit Hand in Hand gehende Bildung von geringen, vor allem aber ausreichenden Mengen bactericid wirkender Flußsäure sehr fraglich, wenn nicht ausgeschlossen, sein. Nach Abraham soll sich nun allerdings der Flußspat sowohl in kaltem wie auch in warmem Wasser in geringen Mengen lösen und nach weiteren Mitteilungen von ihm soll sich derselbe in Lösung selbst mit den schwächsten organischen Säuren sofort umsetzen und so die antiseptische Wirkung der Flußsäure eintreten. Statt aller weiteren Erörterungen und Entgegnungen auf die Bemerkungen von Claaßen hin im Centralblatt f. Zuckerindustrie hätte indessen Abraham vielleicht besser gethan, den strengen Nachweis zu führen, daß sich erstens die geringen Mengen Flußspat, welche sich nach seiner Ansicht lösen sollen, sich auch thatsächlich unter den Verhältnissen der Diffusion lösen und daß zweitens und namentlich diese unbedeutenden Mengen imstande sind, die Bakterien, also besonders den Leuconostoc, abzutöten.

Heinze (Halle a. S.).

Vestergren, Tycho, Eine arktisch alpine Rhabdospora. (Bihang till k. Svenska Vet. Acad. Handl. Bd. XXVI. Afd. III. No. 12. p. 1—23. Mit 2 Tafeln.)

Verf. behandelt in eingehender Weise Nomenklatur, Vor-

kommen anatomischer und physiologischer Verhältnisse der Rabdospora cercosperma Sacc., welche dadurch besonders bemerkenswert ist, daß sie auf den verschiedensten Wirtspflanzen vorkommt (er zählt 32 Arten — 15 Familien, darunter sogar Lycopodiaceen, angehörig — auf) und trotzdem ausschließlich arktische und alpine Gegenden bewohnt. Es werden sodann beschrieben: Oeffnungsmechanismus der Spermogonien, Verlauf des vegetativen Mycels, Entstehung und Natur der Conidien, ferner die bei Kultur in Wasser oder Nährlösung erzielten Sekundärconidien, physiologische Bedingungen der Conidienbildung (höhere Temperatur, 25 bis 30°, wirkt hemmend auf die Conidienbildung ein, befördert hingegen die Entwickelung eines reichen vegetativen Mycels), chemische Zusammensetzung der Zellwände und des Zellinhalts (erstere bestehen wahrscheinlich aus Chitin, letzterer zeigt erst in älteren Hyphen die Glykogenreaktion). Schließlich giebt Verf. Gründe an für seine (auch von Rostrup schon ausgesprochene) Vermutung, daß der Pilz zur Discomyceten-Gattung Heterosphaeria gehöre. Er glaubt, daß die Heterosphaeria Patella var. alpestris das Ascusstadium der Rhabdospora cercosperma darstelle. Neger (Eisenach).

Hollrung, M., Der falsche Mehltau, Peronospora Schachtii, in den Rübensamenfeldern und dessen Bekämpfung. (Blätter für Zuckerrübenbau. 1902. p. 289.)

Wie in allen Jahren mit feuchtkalter Frühjahrswitterung, ist auch im Frühjahr 1902 an den noch im ersten Stadium ihres Wachstums befindlichen Rübensamenstauden die Erscheinung aufgetreten, daß die Blätter eine fahlgelbe Oberfläche annahmen, wobei sich ihre Ränder nach der Unterseite zu einrollten. Die Streckung der Blattstiele ebenso wie der Internodien des Stengels und des Blütenstandes unterbleibt, so daß die ganze Staude einer kurz aufgeschossenen Rosette gleicht. Die befallenen Pflanzen bleiben im Wachstum zurück. Morphologisch ähnelt die Erscheinung im großen und ganzen den sogenannten Hexenbesenbildungen auf Obst- und Nutzgehölzen. Auch der vorliegenden Erscheinung liegt die Thätigkeit eines Pilzes — Peronospora Schachtii — zu Grunde, welcher sich in Form eines ziemlich kräftigen, mäusegrauen, filzigen Ueberzuges auf der Unterseite der Blätter, im Grunde der Wölbungen wie auch auf den Blütenständen vorfindet. Auf welche Weise und mit welchen Mitteln der Pilz Gewalt über die Pflanze gewinnt, ist noch nicht sicher bekannt. Bekannt dagegen ist die Entwickelungsgeschichte des Pilzes, die derjenigen des Kartoffelpilzes, Phytophthora infestans, in manchen Beziehungen ähnelt. Der Schädiger überwintert am Kopf der Mutterrübe oder der Stecklinge und die Sporen gelangen auf den erwähnten filzigen Ueberzügen der Blätter zur Ausbildung. Aufnahmsfähig für den Pilz sind vorzugsweise die zarteren Organe der Rübenpflanzen, also die Herzblättchen. Einjährige Rüben und Stecklinge werden erst im Juli, August und noch später von dem Pilz befallen, was

sich daraus erklärt, daß die Fortpflanzungsorgane des Parasiten auf den Samenrüben erst ausgebildet werden müssen, bevor sie auf die einjährigen Rüben übergehen können. Das frühere oder spätere Erscheinen der Krankheit auf den letzteren hängt im übrigen von Windstärke und Witterung ab; je windärmer und trockener die Jahreszeit, desto später die Infektion. Ob die Krankheit durch den Samen übertragbar ist, ist noch fraglich.

Zur Bekämpfung kommen folgende Maßnahmen in Betracht: 1) Die befallenen Samenstauden sind vom Acker zu entfernen und zu vernichten. 2) Die Vorgewände der Rübensamenfelder dürfen nicht mit Stecklingen bepflanzt werden, da hierdurch die Uebertragung der Krankheit von Samenrüben auf die Stecklinge ungemein erleichtert wird. 3) Stecklinge und Mutterrüben sind womöglich auf einem westlich von Samenrüben belegenen Feldstücke anzubauen, damit nicht die im letzteren aufkommenden Sporen durch den vorherrschend aus Westen wehenden Wind auf die nächstjährigen Samenträger übertragen werden. Läßt sich dies nicht durchführen, so sind die Felder möglichst weit auseinanderzulegen. Diese drei Maßregeln sollen der Verbreitung des Parasiten entgegenarbeiten. Nachdem trotzdem vereinzelt einjährige Rüben erkranken können, so ist es notwendig, 4) erkrankte Stecklinge, bezw. Mutterrüben von der Einmietung auszuschließen und zu vernichten. 5) Die Aussonderung kopffauler Stecklinge vor dem Auspflanzen zu wiederholen.

Am besten wird das kranke Material durch Dämpfen oder Verfüttern beseitigt. Das Bespritzen der Rüben oder Samenstanden mit Kupferkalkbrühe verspricht, mit Rücksicht auf die technischen Schwierigkeiten, nur geringen Erfolg. Stift (Wien).

Jacky, Ernst, Athalia spinarum Fabr., die Rübenblattwespe. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. XII. 1902. p. 107.)

Die Afterraupen der Rübenblattwespe, in der Schweiz „schwarze Würmer“ genannt, haben in diesem Lande im Jahre 1901 an verschiedenen Orten großen Schaden angerichtet. Die Raupe frißt an den Blättern von Raps, Rüben, Kohl, Meerrettig und anderen, teils wild wachsenden Cruciferen anfangs rundliche Löcher; bei starkem Auftreten der Larven bleibt schließlich nur noch ein Skelett der derberen Blattnerven übrig. In der Schweiz richtet besonders die zweite Generation, die von August bis Oktober auftritt, große Verheerungen an. Die Rübenblattwespe tritt wie manche andere Pflanzenschädlinge sehr periodisch auf und dürfte dies mit der Witterung zur Zeit der ersten Generation in Zusammenhang stehen, vorausgesetzt, daß nicht auch innere, unbekannte Ursachen mitsprechen. Zur Bekämpfung des Schädlings werden in der Litteratur wohl zahlreiche Gegenmittel angegeben (Walzen der Saat, Einstreuen von Kalkstaub, Gyps, Asche, Ruß auf die taufeuchten Pflanzen, Eintreiben von Enten, Bespritzen mit 1 Proz. Sanatollösung, Zerstören der Larven der ersten Generation) doch dürfte manchen dieser Mittel kein großer Wert beigemessen werden.

Büki hat durch ein Bespritzen mit einem Gemisch von 400 g Schmierseife und 100 g persische Insektenpulver auf 10 l Wasser einen durchschlagenden Erfolg erzielt und dürfte ich dieses Mittel bei kleinen Parzellen empfehlen. Bei größeren Flächen steht der Kostenpunkt im Wege, und in diesem Falle empfiehlt sich das Walzen der Saat, soweit es sich wenigstens um Rapsfelder und Felder mit Futtermischung (Raps, Wicke, Hafer) handelt. Sollte sich in den kommenden Jahren die Rübenblattwespe stärker ausbreiten, so wäre eine allgemein durchgeführte vorübergehende Einschränkung des Anbaues von Cruciferen — soweit wenigstens nicht die oft in großen Mengen vorkommenden wildwachsenden Kreuzblütler ihr die nötige Nahrung bieten — das beste und gewiß rationellste Vertilgungsmittel.

Stift (Wien).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Kuntze, W., Einige Bemerkungen über die Färbung von Geißeln, besonders über das Verfahren von van Ermengem. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 7. p. 555—560.)

Tonzig, C. e Ruata, G. Q., Nozioni tecniche di bacteriologia, microscopia e chimica applicata all' igiene. Città di Castello (S. Lapi) 1902. 16°. 3 l. 50 c.

Systematik, Morphologie und Biologie.

Achalme, P., Recherches sur quelques bacilles anaérobies et leur différenciation. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1902. No. 9 p. 641—662.)

Berlese, A., Specie di Acari nuovi. (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 683/684. p. 697—700.)

Bokorny, Th., Selbstverdauung der Hefe. (Allg. Brauer- u. Hopfen-Ztg. 1902. No. 228. p. 2449.)

— —, Gärung und Enzym. (Umschau. 1902. p. 102—107.)

Czapek, F., Untersuchungen über die Stickstoffgewinnung und Eiweißbildung der Schimmelpilze. (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Ztschr. f. d. ges. Biochemie. Bd. III. 1902. Heft 1/3. p. 47—66.)

Dietel, P., Bemerkungen über Uropyxis und verwandte Rostpilzgattungen. (Hedwigia 1902. Beibl. Bd. XLI. p. 107—113.)

v. Janicki, C., Ueber zwei neue Arten des Genus Davainea aus celebensischen Säugern. (Arch. de parasitol. T. VI. 1902. No. 2. p. 257—292.)

Malvoz, E., Sur les cils composés. (Annal. de l'Inst. Pasteur. 1902. No. 9. p. 686—689.)

Neumann, L. G., Note sur une collection d'ectoparasites recueillis en Abyssinie par M. le Baron C. von Erlanger. (Arch. de parasitol. T. VI. 1902. No. 2. p. 293—294.)

Odin, G., Sur l'existence de formes-levures stables chez quelques moisissures. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 12. p. 479—481.)

Oudemans, A. C., Notes on acari (4. ser.). Tijdschr. v. d. Nederl. dierk. vereenig. 1902. Deel 7. Aflev. 3/4. p. 276—311.)

Railliet, A., Nouveau type de larve de cestode. (Verhandl. d. V. internat. Zoolog.-Kongr. 1902. p. 794—795.)

de Rocquigny-Adanson, G., Chenilles processionnaires du pin (Cnethocampa pityocampa Schiff.) tournant en verde pendant 24 heures. (Feuille jeune natural. 380. Juin 1902. p. 170—171.)

Srámek, A., Helminthen der an der zoologischen Station in Podiebrad (Böhmen) untersuchten Fische. (Arch. d. naturw. Landesdurchforsch. Böhmens. Bd. XI. 1902. p. 16—40.)

Stiles, Ch. W., Trichinella spiralis, trichinosis and trichina-inspection: a zoological study in public hygiene. (Proceed. Address. of the pathol. soc. of Philad. N. S. Vol. IV. 1902. No. 7. p. 137—153.)

Stiles, Ch. W. and **Hassall, A.**, Levinseniella new name for the trematode genus Levinsenia Stossich. (Elev. miscell. pap. Anim. paras. 1902. p. 19—20.)

Winneguth, O., Eine zweite Generation des Kieferspinners. (Insekten-Börse. 1902. No. 37. p. 290—291.)

Ziemann, H., Beitrag zur Anopheles-Fauna West-Afrikas. [Vorl. Mitt.] (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1902. Heft 10. p. 360—361.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Dünkelberg, Die Reinigung des Thalsperrenwassers für Genußzwecke. (Techn. Gemeindebl. 1902. No. 12. 13.)

Engels, Weitere Studien über die Sterilisation von Trinkwasser auf chemischem Wege. (Traube'sches Verfahren mit Hilfe von Chlorkalk.) (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 7. p. 495—521.)

Fratkin, B. A., Der augenblickliche Stand über die Frage der Anwendung von Ozon zur Sterilisation des Wassers. (Praktitsch. wratsch. 1902. No. 12, 14, 15. [Russisch].

Goupil, P., Tableaux synoptiques pour l'examen bactériologique de l'eau. 16°. 72 p. avec fig. Paris.

Hesse, W., Zur quantitativen Bestimmung der Wasserkeime. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 7. p. 553—555.)

Pottier, Epuration de l'eau potable en campagne. (Annal. d'hygiène et de méd. colon. 1902. No. 4. p. 599—605.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Milch, Molkerei.

v. Freudenreich, E., Ueber den Einfluß niedriger Temperaturen auf die Käsereifung. (Milch-Ztg. 1902. No. 40. p. 628—629.)

Hohl, J., Ein neuer, aus Stroh isolierter, das „Fadenziehen" der Milch verursachender Coccus. (Karphococcus pituitoparus.) (Landwirtsch. Jahrb. der Schweiz. - Milch-Ztg. 1902. No. 41. p. 643—645.)

Müller, P. Th., Weitere Studien über die Fällung des Caseïns durch Lab und Laktoserum. II. Mitt. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. No. 7. p. 521—542.)

Wein, Weinbereitung.

Seifert, W., Zur heurigen Mostvergärung. (Weinlaube. 1902. No. 41. p. 481—484.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Ash, C. D., Food-plants of Epunda lichenea. (Entomol. record. 1902. No. 4. p. 101—102.)

Bankes, E. R., Food-plants of the Larva of Cnephasia sinuana Stph. (Entomologist. 1902. July. p. 194.)

Berlese, A., Metodo di lotta razionale contro la Cochylis ambiguella ed altri insetti. (Bollett. d. entomol. agrar. e patol. veget. 1901. No. 9. p. 205—210.)

Buhl, F., Was können wir für die Reblausbekämpfung im Deutschen Reiche aus den

neuesten Erfahrungen im französischen Seuchengebiete lernen? (Hessische landwirtsch. Ztschr. 1902. No. 38. p. 385—387.)

Camus, E. G., Note sur une monstruosité d'origine parasitaire du Salix hippophaefolia Thuill. (Bullet. de la soc. botan. de France. T. XLIX. 1902. p. 70—71.)

Cao, G., Sulle alterazioni delle paste e dei cereali dovute al „Punteruolo". (Annali d'igiene sperim. Vol. XII. 1902. fasc. 4. p. 569—580.)

Catoni, G., Un procédé de destruction de la cochylis. (Coltivatore.) (Vigne améric. 1902. No. 8. p. 247—250.)

Danger, L., Kampf gegen das Unkraut im Garten. (Dtsche landwirtsch. Wchschr. 1902. No. 34. p. 213.)

Geisenheyner, L., Ueber einige neue und seltenere Zoocecidien aus dem Nahegebiete. (Allg. Ztschr. f. Entomol. 1902. No. 14—16.)

Heuzé, G., Destruction des plantes nuisibles annuelles. (Journ. d'agricult. prat. 1902. No. 35. p. 283—285.)

Hoffmann, H., Krankheiten der Birnbäume. (Möller's dtsche Gärtner-Ztg. 1902. No. 37. p. 445—447.)

Lüdemann, C., Die Bekämpfung des schwarzen Kornkäfers. (Landwirtsch. Wchbl f. Schleswig-Holstein. 1902. No. 35. p. 660—661.)

Pfreimbtner, J., Praktische Erfahrungen bei Anwendung des Löffler'schen Mäusetyphusbacillus (Bacillus typhi murium). (Hessische landwirtsch. Ztschr. 1902. No. 35. p. 358—360.)

Remer, Der Getreidelaufkäfer (Zabrus gibbus). (Ztschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Schlesien. 1902. Heft 35. p. 1059—1061.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Originalreferate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Privatdocent Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 15. Dezember 1902. **No. 22/23.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Weitere Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien.

Von Dr. **Gerlach** und Dr. **Vogel**, Posen.

In Band VIII dieser Zeitschrift[1]) haben wir über eine Reihe von Versuchen mit stickstoffbindenden Bakterien berichtet und gezeigt, daß durch dieselben beträchtliche Mengen des freien, atmosphärischen Stickstoffes im Boden festgelegt werden können. Die Stickstoffbindung findet jedoch nur statt, wenn den betreffenden Bakterien organische Kohlenstoffverbindungen, wie Traubenzucker, Calciumpropionat und ähnliche zugänglich sind. Jene Substanzen werden zersetzt, und es entstehen in letzter Linie Kohlensäure und

1) p. 669.

den freien Stickstoff zu binden, doch zeigen sie erst bei der Symbiose mit Chroococcum in dieser Beziehung ihre Fähigkeit in Vollendung.

Dagegen kann Aërogenes an und für sich den freien Stickstoff sicher nicht binden und ebensowenig gelang es, dieses Vermögen für die Reinkulturen von Radiobacter nachzuweisen.

Bei der Symbiose mit Chroococcum müssen also entweder Aërogenes und Radiobacter die Assimilationsfähigkeit erlangen, oder es ist Chroococcum selbst, welches dann dazu befähigt wird, oder sowohl die letzteren als die ersteren Arten erhalten dadurch zugleich diese Fähigkeit.

... Andererseits muß daraus die wichtige Folgerung abgeleitet werden, daß das erste Assimilationsprodukt des freien Stickstoffes eine Stickstoffverbindung ist, welche in der Flüssigkeit außerhalb der erzeugenden Bakterien im freien Zustande vorkommt, und deshalb für alle diejenigen Mikroben oder anderen Organismen erreichbar ist, welche damit ihr Stickstoffbedürfnis befriedigen können."

Beijerinck und van Delden sprechen demnach den Bakterien der Azotobacter-Gruppe die Fähigkeit ab, wesentliche Mengen des freien Stickstoffes festzulegen, und nehmen an, daß sich jene Lebewesen von stickstoffhaltigen Verbindungen ernähren, welche von begleitenden Symbionten, wie Granulobacter, Aërobacter und Radiobacter, gebildet und ausgeschieden sind.

Wir können diesem Urteile nicht zustimmen und sind der Ansicht, daß die Azotobacter-Gruppe und besonders das von Beijerinck und von uns isolierte Azotobacter chroococcum befähigt ist, für sich allein reichliche Mengen Stickstoff zu binden.

Die Wichtigkeit, welche diese Angelegenheit besitzt, wird es rechtfertigen, wenn wir im Nachfolgenden über eine Reihe weiterer Untersuchungen berichten, welche unternommen wurden, um uns von der Reinheit unserer Kulturen zu überzeugen.

In unserer früheren Arbeit ist bereits darauf hingewiesen worden, daß Azotobacter chroococcum in den gewöhnlichen stickstoffreichen Nährlösungen nicht wächst, im Gegensatz zu den Bakterien gewöhnlicher Art, zu welchen auch die Gattungen Granulobacter, Radiobacter und Aërobacter gehören. Eine Peptonbouillon ist demnach noch nach Wochen klar, wenn sie nur Azotobacter chroococcum enthält, wird dagegen bereits nach kurzer Zeit getrübt, sobald noch andere Bakterien anwesend sind. Diese Beobachtung ist neben der mikroskopischen Prüfung ein ausgezeichnetes Merkmal, um sich von der Reinheit der benutzten Azotobacter-Kulturen zu überzeugen.

Es gelangten folgende Versuche zur Ausführung.

Acht Stück der bereits beschriebenen Erlenmeyer-Kolben wurden mit je einem Liter der stickstofffreien Nährlösung [1]), sowie 12 g Traubenzucker gefüllt und an 3 aufeinander folgenden Tagen im strömenden Dampf sterilisiert. Ein Kolben (No. 1) blieb ungeimpft, während die übrigen (No. 2—8) mit je einer Platinöse

1) Siehe p. 818.

einer auf folgende Weise gewonnenen Kultur von Azotobacter chroococcum infiziert wurden.

Wir wählten als Ausgangsmaterial eine Kultur obiger Bakterien, welche sich bei wiederholter mikroskopischer und kultureller Prüfung bereits als rein erwiesen hatte, strichen zunächst eine Oese derselben auf Glukose-Agarplatten[1]) aus und übertrugen von einer gebildeten, isoliert liegenden, mikroskopisch reinen Kolonie etwas auf schräg erstarrten Glukoseagar. Der nach einigen Tagen auf demselben gebildete Belag erwies sich bei der sorgfältigsten Prüfung als vollkommen rein. Es ließen sich nur die großen Stäbchen von Azotobacter chroococcum erkennen. Andere Bakterien waren nicht nachweisbar. Diese Kultur diente als Impfmaterial.

(Schluß folgt.)

Mitteilungen aus der vom kgl. bayer. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.

Einfluss der alkoholischen Gärungsprodukte auf Hefe und Gärverlauf.

Von **Fritz Thibaut.**

(Schluß.)

Das Gärvermögen erleidet in allen Fällen eine Einbuße, mit Ausnahme bei den Zimmergärungen der Hefe Frohberg mit Zusatz von 5 und 20 Proz. Gärungsprodukte von Pastorianus III, die eine Erhöhung bewirkten; doch war auch in diesem Falle die Wirkung eines Zusatzes von 5 Proz. am höchsten und von 20 Proz. geringer, während ein Zusatz von 50 Proz. Abnahme des Gärvermögens veranlaßte.

Wie die Besprechung der vorliegenden Resultate zeigt, üben die alkoholischen Gärungsprodukte auf Gärung, Hefeentwickelung und Vermehrung einen großen Einfluß aus. Sie verhalten sich wie Gifte, die in kleinen Mengen anreizend, in größeren Mengen hemmend auf die Lebensfunktionen der Hefen einwirken.

Diese Einwirkung ist verschieden und hängt ab von der Hefeart und der Art und Menge der angewandten Gärungsprodukte.

---

1) Siehe Bd. VIII. p. 670.

Tabelle 1.

Gärungen von Hefe Frohberg und Sacch. Pastorianus III bei 25° C und 5—6° C.

	Frohberg bei 25° C				Sacch. Past. III bei 25° C				Frohberg bei 5—6° C				Sacch. Past. III bei 5—6° C			
Nach Tagen	4	8	14	28	4	8	14	28	8	14	28	42	8	14	28	42
Zuckerlösung	9,77	9,77	9,77	9,77	9,58	9,58	9,59	9,59	9,65	9,59	9,59	9,59	9,59	9,59	9,59	9,59
Nach der Gärung																
Invertzucker vorhanden	6,91	4,49	3,76	2,805	2,712	3,716	1,642	—	9,024	8,56	7,01	5,608	4,064	5,64	6,944	5,08
Rohrzucker vorhanden	—	—	—	—	4,165	1,1	—	—	—	—	—	—	3,99	1,91	—	—
„ vergoren	3,21	5,49	6,19	7,11	2,84	4,93	8,04	9,59	1,08	1,46	2,94	4,27	1,74	2,32	3,0	4,77
„ vergor. in Proz.	30,43	56,25	63,42	72,77	29,6	51,4	83,8	100	11,2	15,2	30,6	44,5	18,1	24,1	31,2	49,7
„ invertiert	—	—	—	—	5,42	8,48	9,59	9,59	9,65	9,59	9,59	9,59	5,06	7,68	9,59	9,59
„ invertiert in Proz.	100	100	100	100	56,5	88,5	100	100	100	100	100	100	58,3	80,0	100	100
Beobachtete Drehung	— 4,32	— 3,4	— 3,3	— 3,0	+ 4,0	— 2,1	— 2,3	± 0	— 3,9	— 4,26	— 4,2	— 4,6	+ 3,62	— 2,5	— 4,4	— 4,72
Dreh. d. vorh. Rohrzuckers	—	—	—	—	+ 4,44	+ 1,46	—	—	—	—	—	—	+ 5,3	+ 2,54	—	—
„ „ „ Invertzuckers	— 4,32	— 3,4	— 3,3	— 3,0	— 0,44	— 3,56	— 2,3	—	— 3,9	— 4,26	— 4,2	— 4,6	— 1,68	— 5,04	— 4,4	— 4,7
Dextrose vorhanden	2,998	2,13	1,31	0,799	1,01	1,2	—	—	4,52	4,09	3,11	2,07	2,064	1,94	3,0	1,69
Lävulose vorhanden	3,912	2,38	2,45	2,006	1,7	2,52	1,642	—	4,504	4,47	3,90	3,53	2,0	3,7	3,94	3,39
Alkohol vorhanden	1,49	2,89	3,22	3,6	1,3	2,4	4,22	4,94	4,98	0,704	1,42	2,024	0,842	1,12	1,506	2,5
Alkohol in Proz. des vergorenen Rohrzuckers	46,41	52,6	52,02	50,63	45,8	48,6	52,4	51,5	46,1	48,2	48,5	47,4	48,3	48,2	50,2	52,4
Säuren:																
Direkt titriert	11,5	17,0	16,5	18,5	5,98	12,98	18,02	20,1	3,0	5,0	8,1	10,5	5,0	8,2	11,0	13,0
Flüchtige organische Säuren	4,66	5.12	5.86	5,6	2,65	5,45	5,71	5,98	1,5	1,8	1,8	1,9	1,5	2.41	3.0	3,6
Fixe organische Säuren	8,1	9,16	12,0	12,56	3,48	7,53	12,31	14,12	1,5	3,2	6,3	8,6	3,5	5,79	8,0	9,4
Aussaat pro cmm:																
Zellen vor der Gärung	19,67	19.67	19,67	19,67	19,1	19,1	19,8	19,8	19.8	19,8	19,8	19,8	19.9	19,9	19,8	19,8
Zellen nach der Gärung	21 840	32 000	32 640	32 640	17 600	22 560	25 600	25600	7600	9300	9360	9400	16 400	16 700	16 700	16 700
Vermehrung aus einer Zelle	1110	1626	1659	1659	921	1180	1310	1310	383	472	472	474	824	839	843	843
1 Mill. Zellen geben:																
Alkohol in mg	0,68	0,9	0,99	1.10	0.74	1,06	1,64	1,92	0,655	0,756	1,60	2,15	0,513	0,670	0,901	1,49
Vergär. Rohrzucker in mg	1.47	1.71	1,89	2,17	1,61	2,18	3,14	3,74	1,42	1,57	3,14	4,54	1,06	1,38	1,8	2,85
Liefern Säuren:																
Direkt titriert	0,0052	0,0053	0,00505	0,0057	0,0035	0,0056	0,00703	0,00784	0,00394	0,00533	0,00865	0,01114	0,00304	0,0049	0,00659	0,00777
Flüchtige organische Säuren	0,0021	0,0016	0,0017	0,00171	0,0015	0,0024	0,00233	0,00233	0,00197	0,00192	0,00192	0,0020	0,00091	0,00144	0,00180	0,00215
Fixe organische Säuren	0,0037	0,0028	0,0036	0,00384	0,0020	0,0033	0,00480	0,00551	0,00197	0,00341	0,00673	0,00914	0,00213	0,00346	0,00479	0,00562

Tabelle 2.

Gärungen von Sacch. Pastorianus III mit eigenen Gärungsprodukten.

Kellertemperatur.

Gärungsproduktenzusatz in Proz.	5 Proz.				20 Proz.				50 Proz.			
Gärdauer nach Tagen	8	14	28	42	8	14	28	42	8	14	28	42
Zuckerlösung	9,88	9,88	9,76	9,88	9,88	9,88	9,88	9,88	9,95	9,88	9,88	9,88
Nach der Gärung:												
Invertzucker vorhanden	1,27	4,2	4,28	2,95	1,52	3,66	4,47	3,84	1,36	2,91	5,73	4,72
Rohrzucker vorhanden	8,04	2,31	0,18	—	8,38	2,35	0,49	—	8,36	4,38	0,23	—
Rohrzucker vergoren	0,64	3,58	5,51	7,08	0,06	4,05	5,14	6,23	0,3	2,74	4,21	5,4
Rohrzucker in Proz. vergoren	6,4	36,23	56,46	71,66	0,6	40,99	52,02	63,05	3,0	27,73	42,61	54,65
Rohrzucker invertiert	1,85	7,57	9,58	9,88	1,5	7,53	9,39	9,88	1,59	5,5	9,65	9,88
Rohrzucker in Proz. invertiert	18,72	76,62	98,15	100	15,18	76,22	95,04	100	16,0	55,66	97,67	100
Beobachtete Drehung	+ 10,0	± 0	— 3,5	— 3,916	+ 10,4	+ 0,4	— 3,132	— 3,186	+ 10,46	+ 3,94	— 4,54	— 4,4
Drehung des vorh. Rohrzuckers	+ 10,68	+ 3,07	+ 0,24	—	+ 11,15	+ 3,13	+ 0,65	—	+ 11,12	+ 5,825	+ 0,306	—
Drehung des vorh. Invertzuckers	— 0,68	— 3,07	— 3,74	— 3,916	— 0,75	— 2,73	— 3,782	— 3,186	— 0,66	— 1,885	— 4,846	— 4,4
Dextrose vorhanden	0,59	1,67	1,5	0,59	0,73	1,44	1,60	1,40	0,66	1,25	2,06	1,56
Lävulose vorhanden	0,68	2,53	2,78	2,36	0,79	2,22	2,87	2,44	0,70	1,66	3,67	3,16
Alkohol vorhanden	—	1,8	2,7	3,36	—	2,10	2,60	3,05	—	1,31	2,10	2,61
Alkohol in Proz. des vergor. Rohrzuckers vorhanden	—	50,27	49,0	49,85	—	51,85	50,58	48,95	—	47,81	49,88	48,33
Säure direkt titriert	0,9	3,3	4,1	8,5	1,6	4,0	6,2	10,0	0,1	2,14	7,5	16,0
Zellenaussaat vor der Gärung	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Zellen nach der Gärung	2112	35 800	36 960	41 280	11 520	38 280	38 440	54 080	768	28 000	29 160	29 280
Vermehrung aus einer Zelle	1056	1790	1848	2064	576	1914	1922	2704	384	1400	1458	1464
1 Million Zellen												
geben Alkohol in mg	—	0,574	0,673	0,81	—	0,54	0,68	0,568	—	0,46	0,72	0,89
vergären Zucker in mg	0,521	1,06	1,335	1,69	0,04	1,06	1,34	1,135	3,9	0,97	1,44	1,84
liefern Säuren in $^1/_{1000}$ ccm	4,26	0,92	1,1	2,05	1,38	1,05	1,61	1,84	1,3	0,76	2,6	5,4

Tabelle 3.

Gärungen von Sacch. Pastorianus III mit eigenen Gärungsprodukten.

Zimmertemperatur.

Gärungsproduktenzusatz in Proz.	5 Proz.				20 Proz.				50 Proz.			
Gärdauer nach Tagen	4	8	14	28	4	8	14	28	4	8	14	27
Zuckerlösung	9,88	9,88	9,88	9,88	9,88	9,88	9,88	9,88	9,95	9,95	9,95	9,88
Nach der Gärung:												
Invertzucker vorhanden	3,45	3,324	0,78	—	3,76	3,36	0,703	—	2,33	3,91	2,15	—
Rohrzucker vorhanden	3,16	0,81	0,25	—	2,94	0,62	0,17	—	5,04	1,27	—	—
Rohrzucker vergoren	3,44	5,91	8,89	9,88	3,45	6,07	9,04	9,88	2,697	4,97	7,907	9,88
Rohrzucker in Proz. vergoren	34,81	51,81	89,97	100	34,91	51,14	91,49	100	27,12	49,94	79,49	100
Rohrzucker invertiert	6,72	9,07	9,63	9,88	6,94	9,26	9,71	9,88	4,89	8,68	9,95	9,88
Rohrzucker in Proz. invertiert	68,01	91,8	97,46	100	70,24	93,72	98,27	100	49,16	87,23	100	100
Beobachtete Drehung	+ 1,93	— 2,1	— 1,0	± 0	+ 1,4	— 2,166	— 1,0	± 0	+ 5,4	— 0,166	— 2,6	± 0
Drehung des vorh. Rohrzuckers	+ 4,20	+ 1,08	+ 0,332	—	+ 3,9	+ 0,824	+ 0,223	—	+ 6,703	+ 1,689	—	—
Drehung des vorh. Invertzuckers	— 2,27	— 3,18	— 1,332	—	— 2,5	— 2,990	— 1,223	—	— 1,303	— 1,855	— 2,6	—
Dextrose vorhanden	1,46	1,07	0,05	—	1,52	1,16	0,043	—	1,06	1,53	0,52	—
Lävulose vorhanden	1,99	2,25	0,73	—	2,15	2,20	0,660	—	1,27	2,38	1,63	—
Alkohol vorhanden	1,74	3,00	4,44	4,844	1,76	3,06	4,506	4,93	1,347	2,50	3,79	4,9
Alkohol in Proz. des vergor. Rohrzuckers vorhanden	50,58	50,76	49,94	49,03	51,01	50,41	49,85	49,89	49,94	50,3	47,93	49,59
Säure direkt titriert	6,1	7,7	10,9	16,5	5,2	7,6	11,6	14,0	2,35	4,35	8,2	10,8
Zellenaussaat vor der Gärung	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Zellen nach der Gärung	53 280	64 160	65 920	67 840	56 000	64 000	65 600	65 600	39 200	45 760	46 880	62 320
Vermehrung aus einer Zelle	2664	3208	3296	3392	2800	3200	3280	3280	1960	2288	2344	3116
1 Million Zellen												
geben Alkohol in mg	0,325	0,467	0,675	0,715	0,315	0,48	0,689	0,751	0,35	0,54	0,81	0,78
vergären Zucker in mg	0,642	0,92	1,35	1,446	0,616	0,949	1,374	1,506	0,61	1,09	1,68	1,58
liefern Säuren in $^1/_{1000}$ ccm	1,14	1,2	1,7	2,4	0,92	1,2	1,76	2,1	0,59	0,94	1,7	1,73

Tabelle 4.

Gärungen von Sacch. Pastorianus III mit den Gärungsprodukten von Hefe Frohberg.

Kellertemperatur.

Gärungsproduktenzusatz in Proz.	5 Proz.				20 Proz.				50 Proz.			
Gärdauer nach Tagen	8	14	28	42	8	14	28	42	8	14	28	42
Zuckerlösung	9,63	9,95	9,63	9,95	9,63	9,63	9,63	9,88	9,95	9,63	9,95	9,88
Nach der Gärung:												
Invertzucker vorhanden	0,84	2,94	6,35	5,9	1,32	4,17	7,43	6,75	2,49	3,02	7,49	6,7
Rohrzucker vorhanden	8,13	6,23	0,48	—	7,54	4,78	0,72	—	7,25	4,81	0,74	—
Rohrzucker vergoren	0,7	0,92	3,11	4,35	0,84	0,89	1,85	3,46	0,325	1,95	2,09	3,51
Rohrzucker in Proz. vergoren	7,26	9,3	32,29	43,71	8,73	9,24	19,21	35,02	3,27	20,25	21,0	35,51
Rohrzucker invertiert	1,65	3,27	9,15	9,95	2,1	4,85	8,91	9,88	2,69	8,08	9,21	9,88
Rohrzucker in Proz. invertiert	17,63	37,39	95,01	100	21,8	50,36	92,52	100	27,03	83,9	92,56	100
Beobachtete Drehung	+10,332	+5,8	—4,9	—3,95	+9,045	+2,649	—4,5	—4,8	+9,498	+3,99	—4,25	—4,2
Drehung des vorh. Rohrzuckers	+10,82	+8,29	+0,638	—	+10,04	+6,34	+0,96	—	+9,643	+6,397	+0,984	—
Drehung des vorh. Invertzuckers	—0,488	—2,49	—5,438	—3,95	—0,995	—3,75	—5,46	—4,8	—0,145	—2,408	—5,234	—4,2
Dextrose vorhanden	0,38	1,05	2,26	2,47	0,51	1,43	2,95	2,73	1,12	1,14	3,06	2,9
Lävulose vorhanden	0,46	1,89	4,09	3,43	0,81	2,74	4,48	4,02	1,37	1,88	4,43	3,8
Alkohol vorhanden	0,33	0,44	1,5	2,2	0,4	0,425	0,9	1,7	0,17	0,95	1,04	1,7
Alkohl in Proz. des verg. Rohrzuckers vorhanden	47,14	47,82	48,23	50,57	47,62	47,75	48,65	49,13	49,23	48,71	49,76	48,43
Säure direkt titriert	0,2	1,4	4,6	12,4	0,5	0,8	7,0	13,6	1,0	4,4	4,6	10,8
Zellenaussaat vor der Gärung	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Zellen nach der Gärung	752	2512	19 200	19 200	2160	3320	12000	24800	1200	9620	17600	25760
Vermehrung aus einer Zelle	37,6	125,6	960	960	108	166	600	1240	60	481	880	1 288
1 Million Zellen												
geben Alkohol in mg	4,38	1,75	0,78	1,145	1,85	1,22	0,75	0,685	1,416	0,98	0,6	0,66
vergären Zucker in mg	9,3	3,67	1,62	2,265	3,89	2,68	1,54	1,39	2,708	2,02	1,18	1,36
liefern Säuren in $^{1}/_{1000}$ ccm	2,6	5,5	2,3	6,4	2,3	2,4	5,8	5,4	8,3	4,5	2,6	4,2

Tabelle 5.

Gärungen von Sacch. Pastorianus III mit den Gärungsprodukten von Hefe Frohberg

Zimmertemperatur.

Gärungsproduktenzusatz in Proz.	5 Proz.				20 Proz.				50 Proz.			
Gärdauer nach Tagen	4	8	14	28	4	8	14	28	4	8	14	28
Zuckerlösung	9,63	9,63	9,63	9,95	9,63	9,63	9,63	9,83	9,88	9,63	9,63	9,63
Nach der Gärung:												
Invertzucker vorhanden	2,41	3,66	4,32	—	3,0	3,27	3,106	—	2,934	3,98	2,78	—
Rohrzucker vorhanden	5,33	1,11	—	—	4,1	0,99	—	—	5,57	1,704	0,79	—
Rohrzucker vergoren	2,01	5,04	5,526	9,95	2,68	5,53	6,679	9,88	1,27	4,146	6,2	9,63
Rohrzucker in Proz. vergoren	20,86	52,33	57,38	100	27,83	57,42	69,35	100	13,19	43,05	64,38	100
Rohrzucker invertiert	4,3	8,52	9,63	9,95	5,53	8,64	9,63	9,88	4,06	7,93	8,84	9,63
Rohrzucker in Proz. invertiert	44,65	88,47	100	100	57,42	89,71	100	100	42,16	82,34	91,79	100
Beobachtete Drehung	+5,5	—1,932	—4,4	±	+3,498	—1,8	—3,4	±	+4,998	—1,5	—3,25	±
Drehung des vorh. Rohrzuckers	+7,089	+1,476	—	—	+5,453	+1,317	—	—	+7,408	+2,266	+1,05	—
Drehung des vorh. Invertzuckers	—1,589	—3,408	—4,4	—	—1,955	—3,117	—3,4	—	—2,41	—3,766	—4,3	—
Dextrose vorhanden	1,01	1,21	1,3	—	1,27	1,05	0,866	—	1,074	1,29	0,35	—
Lävulose vorhanden	1,4	2,45	3,02	—	1,73	2,22	2,24	—	1,86	2,69	2,43	—
Alkohol vorhanden	0,96	2,5	2,75	4,87	2,03	2,7	3,33	4,9	0,64	2,0	3,05	4,75
Alkohol in Proz. des verg. Rohrzuckers vorhanden	47,76	49,60	49,76	48,98	49,51	48,82	49,86	49,50	50,39	48,19	49,19	49,32
Säure direkt titriert	3,3	5,8	10,2	14,2	2,2	8,2	8,4	14,0	3,4	9,25	11,2	14,0
Zellenaussaat vor der Gärung	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Zellen nach der Gärung	22 840	25 600	30 480	35 000	28 000	33 600	39 840	45 100	30 280	38 700	45 600	51 200
Vermehrung aus einer Zelle	1142	1280	1524	1750	1400	1680	1992	2255	1514	1935	2280	2560
1 Million Zellen												
geben Alkohol in mg	0,42	0,978	0,902	1,39	0,48	0,8	0,848	1,087	0,211	0,52	0,67	0,93
vergären Zucker in mg	0,879	1,97	1,82	2,84	0,96	1,66	1,68	2,19	0,419	1,07	1,35	1,88
liefern Säuren in $^1/_{100}$ ccm	1,4	2,26	3,3	4,06	0,78	2,4	2,1	3,1	1,1	2,4	2,6	2,7

Tabelle 6.

Gärungen von Hefe Frohberg mit eigenen Gärungsprodukten

Kellertemperatur.

Gärungsproduktenzusatz in Proz.	5 Proz.				20 Proz.				50 Proz.			
Gärdauer nach Tagen	8	14	28	42	8	14	28	42	8	14	28	42
Zuckerlösung	9,63	9,63	9,63	9,95	9,63	9,63	9,63	9,95	9,88	9,88	9,63	9,95
Nach der Gärung:												
Invertzucker vorhanden	0,956	2,92	7,65	5,97	1,0	2,4	7,03	4,2	2,22	3,36	6,68	6,2
Rohrzucker vorhanden	8,478	6,37	0,59	—	8,56	5,95	0,66	—	7,5	2,85	2,17	—
Rohrzucker vergoren	0,25	0,49	1,75	4,28	0,13	1,4	2,29	5,95	0,28	0,63	1,11	3,43
Rohrzucker in Proz. vergoren	2,59	5,08	18,17	43,01	1,35	14,54	23,77	59,79	2,83	6,37	11,5	34,47
Rohrzucker invertiert	1,158	3,26	9,04	9,95	1,08	3,68	8,97	9,95	2,39	3,83	7,46	9,95
Rohrzucker in Proz. invertiert	12,02	33,85	93,87	100	11,20	38,21	93,14	100	24,19	38,76	77,1	100
Beobachtete Drehung	+9,8	+7,1	—4,5	—4,28	+10,86	+6,122	—4,65	—3,86	+9,0	+6,498	—1,5	—4,0
Drehung des vorh. Rohrzuckers	+11,28	+8,472	+0,785	—	+11,385	+7,914	+0,878	—	+9,975	+8,046	+2,9	—
Drehung des vorh. Invertzuckers	—1,48	—1,372	—5,285	—4,28	—,525	—1,792	—5,528	—3,86	—0,975	—1,548	—4,4	—4,0
Dextrose vorhanden	0,12	1,41	3,15	2,48	0,46	0,94	2,66	1,4	1,09	1,64	2,82	2,64
Lävulose vorhanden	0,84	1,51	4,5	3,49	0,54	1,46	4,37	2,8	1,13	1,72	3,86	3,56
Alkohol vorhanden	—	0,24	0,85	2,1	0,06	0,68	1,1	2,88	—	0,32	0,54	1,7
Alkohol in Proz. des verg. Rohrzuckes vorhanden	—	48,97	48,57	49,06	—	48,60	48,03	48,40	—	50,79	46,9	49,56
Säuren	0,12	0,6	3,2	12,9	0,4	1,0	4,6	10,4	1,0	2,1	2,8	8,2
Zellenaussaat vor der Gärung	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Zellen nach der Gärung	656	3000	9760	20 800	3600	4632	12 000	21 600	1500	5800	9600	14 000
Vermehrung aus einer Zelle	32,8	150	488	1040	180	231	600	1080	75	290	480	700
1 Million Zellen												
geben Alkohol in mg	—	0,8	0,87	0,75	0,17	1,46	0,92	1,33	—	0,55	0,56	1,2
vergären Zucker in mg	3,8	1,63	1,79	1,53	0,36	3,02	1,91	2,75	1,86	1,08	1,15	2,45
liefern Säuren in $^{1}/_{1000}$ ccm	1,8	2,0	3,28	6,2	1,1	2,15	3,8	4,8	6,6	3,6	2,9	5,8

Tabelle 7.

Gärungen von Hefe Frohberg mit eigenen Gärungsprodukten

Zimmertemperatur.

Gärungsproduktenzusatz in Proz.	5 Proz.				20 Proz.				50 Proz.			
Gärdauer nach Tagen	4	8	14	28	4	8	14	28	4	8	14	28
Zuckerlösung	9,95	9,63	9,63	9,63	9,63	9,63	9,63	9,95	9,63	9,63	9,63	9,63
Nach der Gärung:												
Invertzucker vorhanden	2,67	5,6	4,458	—	2,84	4,183	4,12	—	2,265	3,893	2,97	—
Rohrzucker vorhanden	5,383	1,21	—	—	4,25	0,99	—	—	5,8	2,14	0,07	—
Rohrzucker vergoren	2,027	3,1	5,39	9,63	2,68	4,67	5,72	9,95	1,34	3,79	6,74	9,63
Rohrzucker in Proz. vergoren	20,37	32,19	55,97	100	27,82	48,49	59,39	100	13,92	39,35	69,98	100
Rohrzucker invertiert	4,57	8,42	9,63	9,63	5,38	8,65	9,63	9,95	3,83	7,49	9,56	9,63
Rohrzucker in Proz. invertiert	45,93	87,43	100	100	55,86	89,82	100	100	39,77	77,77	92,27	100
Beobachtete Drehung	+5,0	—3,6	—4,0	±	+4,0	—2,2	—3,798	±	+6,0	—0,732	—3,6	±
Drehung des vorh. Rohrzuckers	+7,16	+1,61	—	—	+5,653	+1,32	—	—	+7,714	+2,846	+0,093	—
Drehung des vorh. Invertzuckers	—2,16	—5,21	—4,0	—	—1,653	—3,52	—3,798	—	—1,714	—3,578	—3,693	—
Dextrose vorhanden	0,98	1,85	1,52	—	1,26	1,5	1,376	—	1,12	1,3	0,67	—
Lävulose vorhanden	1,69	3,75	2,94	—	1,58	2,683	2,74	—	1,51	2,59	2,30	—
Alkohol vorhanden	1,01	1,5	2,6	4,7	1,32	2,26	2,85	4,8	0,68	1,82	3,35	4,55
Alkohol in Proz. des verg. Rohrzuckers vorhanden	49,82	48,39	48,23	48,80	49,25	48,39	49,83	48,24	50,74	48,02	49,70	47,44
Säuren	1,4	3,4	6,2	10,1	1,2	4,1	4,3	11,5	2,2	5,0	6,4	11,9
Zellenaussaat vor der Gärung	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Zellen nach der Gärung	28 480	34 000	35 480	40 500	35 480	42 560	46 320	46 320	31 200	36 800	41 048	55 200
Vermehrung aus einer Zelle	1424	1700	1774	2025	1774	2128	2316	2316	1560	1840	2052	2760
1 Million Zellen												
geben Alkohol in mg	0,38	0,44	0,73	1,16	0,36	0,507	0,61	1,03	0,217	0,49	0,81	0,82
vergären Zucker in mg	0,71	0,91	1,52	2,37	0,75	1,1	1,23	2,14	0,43	1,03	1,64	1,74
liefern Säuren in $^1/_{1000}$ ccm	0,49	1,0	1,74	2,48	0,34	0,96	0,93	2,47	0,705	1,35	1,55	2,15

Tabelle 8.

Gärungen von Hefe Frohberg mit den Gärungsprodukten von Sacch. Pastorianus III.

Kellertemperatur.

Gärungsproduktenzusatz in Proz.	5 Proz.				20 Proz.				50 Proz.			
Gärdauer nach Tagen	8	14	28	42	8	14	28	42	8	14	28	42
Zuckerlösung	9,88	9,87	9,87	9,87	9,76	9,76	9,76	9,88	9,95	9,76	9,95	9,76
Nach der Gärung:												
Invertzucker vorhanden	3,04	8,67	7,37	5,35	1,76	8,69	6,41	5,51	1,66	3,05	6,39	5,4
Rohrzucker vorhanden	6,09	0,24	—	—	7,82	—	—	—	7,55	5,54	0,53	—
Rohrzucker vergoren	0,1	1,42	2,87	4,79	0,26	1,5	3,67	4,65	0,82	1,32	3,35	4,63
Rohrzucker in Proz. vergoren	1,02	14,38	29,08	48,53	2,66	15,65	37,60	47,06	8,199	13,52	33,66	47,43
Rohrzucker invertiert	2,98	9,63	9,87	9,87	1,94	9,76	9,76	9,88	2,48	4,22	9,42	9,76
Rohrzucker in Proz. invertiert	30,16	97,56	100	100	19,87	100	100	100	24,92	43,23	96,68	100
Beobachtete Drehung	+7,0	—4,0	—4,6	—4,132	+9,1	—3,466	—4,332	—4,4	+9,2	+5,45	—3,86	—3,6
Drehung des vorh. Rohrzuckers	+9,18	+0,32	—	—	+10,4	—	—	—	+10,04	+7,37	+0,706	—
Drehung des vorh. Invertzuckers	—2,18	—4,32	—4,6	—4,132	—1,3	—3,466	—4,332	—4,4	—0,84	—1,922	—4,566	—3,6
Dextrose vorhanden	1,22	4,11	3,19	1,02	0,69	4,26	2,67	2,07	0,79	1,32	2,57	2,26
Lävulose vorhanden	1,82	4,53	4,18	4,33	1,07	4,43	3,74	3,44	0,87	1,73	3,82	3,14
Alkohol vorhanden	—	0,72	1,448	2,46	—	0,71	1,856	2,38	0,41	0,67	1,65	2,25
Alkohol in Proz. des verg. Rohrzuckers vorhanden	—	50,70	50,45	51,35	—	47,34	50,58	51,18	50,0	50,75	49,25	48,59
Säuren	1,2	5,3	10,1	10,24	1,0	2,85	4,5	5,0	0,2	0,55	3,36	8,6
Zellenaussaat vor der Gärung	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Zellen nach der Gärung	1460	17 200	26 200	26 200	1480	15 280	25 760	25 800	4960	28 480	37 280	50 000
Vermehrung aus einer Zelle	73	860	1310	1310	74	764	1288	1290	248	1424	1864	2500
1 Million Zellen												
geben Alkohol in mg	—	0,418	0,552	0,93	—	0,465	0,722	0,92	0,83	0,23	0,45	0,45
vergären Zucker in mg	0,68	0,8283	1,099	1,83	1,75	0,98	1,428	1,802	1,65	0,465	0,89	0,925
liefern Säuren in $^1/_{1000}$ ccm	8,2	3,08	3,85	3,908	6,78	1,86	1,74	1,93	0,402	0,2	0,9	1,72

Tabelle 9.

Gärungen von Hefe Frohberg mit den Gärungsprodukten von Sacch. Pastorianus III.

Zimmertemperatur.

Gärungsproduktenzusatz in Proz.	5 Proz.				20 Proz.				50 Proz.			
Gärdauer nach Tagen	4	8	14	28	4	8	14	28	4	8	14	28
Zuckerlösung	9,872	9,872	9,88	9,872	9,76	9,88	9,76	9,88	9,76	9,88	9,76	9,88
Nach der Gärung:												
Invertzucker vorhanden	7,66	5,65	3,12	0,3	7,62	5,62	2,52	0,861	3,46	4,1	1,81	—
Rohrzucker vorhanden	0,95	—	—	—	-	—	—	—	3,8	0,29	0,07	—
Rohrzucker vergoren	1,64	4,5	6,91	9,587	2,52	4,54	7,37	9,066	2,67	5,7	7,97	9,88
Rohrzucker in Proz. vergoren	16,61	45,58	69,93	97,13	25,82	45,95	75,51	91,76	27,35	57,69	81,65	100
Rohrzucker invertiert	8,91	9,872	9,88	9,872	9,76	9,88	9,76	9,88	6,13	9,59	9,69	9,88
Rohrzucker in Proz. invertiert	90,25	100	100	100	100	100	100	100	62,81	97,06	99,28	100
Beobachtete Drehung	—3,932	—3,83	—3,46	—0,322	—4,166	—4,266	—3,0	—1,3	+3,132	—3,2	—2,466	±
Drehung des vorh. Rohrzuckers	+1,26	—	—	—	—	—	—	—	+5,054	+0,39	+0,093	—
Drehung des vorh. Invertzuckers	—5,19	—3,83	—3,46	—0,322	—4,166	—4,266	—3,0	—1,3	—1,922	—3,59	—2,56	—
Dextrose vorhanden	3,61	2,35	0,84	0,077	3,5	2,18	0,61	0,121	1,58	1,94	0,31	—
Lävulose vorhanden	4,05	3,30	2,28	0,223	4,11	3,44	1,91	0,74	1,88	2,16	1,50	—
Alkohol vorhanden	0,8	2,23	3,52	4,80	1,26	2,22	3,65	4,51	1,32	2,79	3,96	4,82
Alkohol in Proz. des verg. Rohrzuckers vorhanden	48,78	49,56	50,9	50,07	50,0	48,9	49,53	49,74	49,43	48,95	49,68	48,78
Säuren	12,9	14,5	19,3	21,2	9,2	15,2	15,6	15,6	6,56	9,76	10,96	14,26
Zellenaussaat vor der Gärung	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Zellen nach der Gärung	32 640	35 256	36 320	36 400	30 400	32 656	38 032	44 480	32 560	35 680	44 480	60 000
Vermehrung aus einer Zelle	1632	1763	1816	1820	1520	1632	1902	2224	1628	1784	2224	3000
1 Million Zellen												
geben Alkohol in mg	0,245	0,63	0,969	1,32	0,415	0,68	0,96	1,015	0,405	0,79	0,89	0,803
vergären Zucker in mg	0,502	1,275	1,901	2,63	0,849	1,392	1,14	2,2	0,82	1,6	1,78	1,64
liefern Säuren in $^1/_{1000}$ ccm	3,9	4,1	5,3	5,7	3,02	4,65	4,1	3,5	2,01	2,73	2,4	2,37

Tabellen 10 u 11.

Inversion bei Kellertemperatur.

	Sacch. Pastor. III mit eigenen Gärungsprodukten				Sacch. Past. III mit Gärungsprod. v. Hefe Frohberg			
Gärdauer nach Tagen	8	14	28	42	8	14	28	42
ohne Zusatz	58,3	80,0	100	100	58,3	80,0	100	100
mit Zusatz 5 Proz.	18,72	76,62	98,15	100	17,63	37,39	95,01	100
„ „ 20 „	15,18	76,22	95,04	100	21,8	50,36	92,52	100
„ „ 50 „	16,0	55,66	97,67	100	27,03	83,9	92,56	100
	Hefe Frohberg mit eigenen Gärungsprodukten				Hefe Frohberg mit Gärungsprod. Sacch. Past. III			
ohne Zusatz	100	100	100	100	100	100	100	100
mit Zusatz 5 Proz.	12,02	33,85	93,87	100	30,16	97,56	100	100
„ „ 20 „	11,20	38,21	93,14	100	19,87	100	100	100
„ „ 50 „	24,19	38,76	77,10	100	24,92	43,23	96,68	100

Inversion bei Zimmertemperatur.

	Sacch. Pastor. III mit eigenen Gärungsprodukten				Sacch. Past III mit Gärungsprod. v. Hefe Frohberg			
Gärdauer nach Tagen	4	8	14	28	4	8	14	28
ohne Zusatz	56,5	88,5	100	100	56,5	88,5	100	100
mit Zusatz 5 Proz.	68,01	91,8	97,46	100	44,65	88,47	100	100
„ „ 20 „	70,24	93,72	98,27	100	57,42	89,71	100	100
„ „ 50 „	49,16	87,23	100	100	42,16	82,34	91,79	100
	Hefe Frohberg mit eigenen Gärungsprodukten				Hefe Frohberg mit Gärungsprod. v. Sacch. Past. III			
ohne Zusatz	100	100	100	100	100	100	100	100
mit Zusatz 5 Proz.	45,93	87,43	100	100	90,25	100	100	100
„ „ 20 „	55,86	89,82	100	100	100	100	100	100
„ „ 50 „	39,77	77,77	92,27	100	62,81	97,06	99,28	100

Tabellen 12 u. 13.

	Vermehrungsenergie	Vermehrungsvermögen	Vermehrungsenergie	Vermehrungsvermögen
bei Kellertemperatur.				
	Sacch. Pastor. III mit eigenen Gärungsprodukten		Sacch. Past. III mit Gärungsprod. v. Hefe Frohberg	
ohne Zusatz	824 = 100	843 = 100	824 = 100	843 = 100
mit Zusatz 5 Proz.	105 = 12,74	2064 = 244,84	37,6 = 4,56	960 = 113,87
„ „ 20 „	576 = 69,90	2704 = 320,75	108 = 13,10	1240 = 147,09
„ „ 50 „	38,4 = 4,66	1464 = 173,66	60 = 7,28	1288 = 152,78
	Hefe Frohberg mit eigenen Gärungsprodukten		Hefe Frohberg mit Gärungsprod. v. Sacch. Past. III	
ohne Zusatz	383 = 100	474 = 100	383 = 100	474 = 100
mit Zusatz 5 Proz.	32,8 = 8,56	1040 = 219,41	73 = 19,05	1310 = 276,37
„ „ 20 „	180 = 49,08	1080 = 227,84	74 = 19,32	1290 = 272,15
„ „ 50 „	75 = 19,58	700 = 47,67	248 = 64,75	2500 = 527,42
bei Zimmertemperatur.				
	Sacch. Pastor. III mit eigenen Gärungsprodukten		Sacch. Past. III mit Gärungsprod. v. Hefe Frohberg	
ohne Zusatz	921 = 100	1310 = 100	921 = 100	1310 = 100
mit Zusatz 5 Proz.	2664 = 289,25	3392 = 258,93	1142 = 124	1750 = 133,58
„ „ 20 „	2800 = 304,01	3280 = 250,38	1400 = 152	2255 = 172,14
„ „ 50 „	1960 = 212,81	3126 = 238,62	1514 = 164,38	2560 = 195,42
	Hefe Frohberg mit eigenen Gärungsprodukten		Hefe Frohberg mit Gärungsprod. v. Sacch. Past. III	
ohne Zusatz	1110 = 100	1659 = 100	1110 = 100	1659 = 100
mit Zusatz 5 Proz.	1424 = 128,29	2025 = 122,06	1632 = 147,02	1820 = 109,70
„ „ 20 „	1774 = 159,82	2316 = 139,60	1520 = 136,93	2224 = 134,04
„ „ 50 „	1560 — 140,54	2760 = 166,36	1628 = 146,66	3000 = 180,83

Tabelle 14.

	Gärungsenergie	Gärvermögen	Gärungsenergie	Gärvermögen
A. Kellertemperatur.				
	a) Sacch. Pastor. III mit eigenen Gärungsprodukten		a) Sacch. Past. III mit Gärungsprod. v. Hefe Frohberg	
ohne Zusatz	1,06 = 100	2,85 = 100	1,06 = 100	2,85 = 100
mit Zusatz 5 Proz.	0,521 = 49,15	1,69 = 59,3	9,3 = 877,3	2,27 = 79,6
„ „ 20 „	0,04 = 3,77	1,135 = 39,83	3.89 = 367,0	1,39 = 48,8
„ „ 50 „	3,9 = 368	1,84 = 64,56	2,71 = 255,6	1,36 = 47,72
	b) Hefe Frohberg mit eigenen Gärungsprodukten		b) Hefe Frohberg mit Gärungsprod. v. Sacch. Past. III	
ohne Zusatz	1,42 = 100	4,54 = 100	1,42 = 100	4,54 = 100
mit Zusatz 5 Proz.	2,8 = 267,6	1,53 = 33,7	0,68 = 47,48	1,83 = 40,31
„ „ 20 „	0,36 = 25,35	2,75 = 60,57	1,75 = 123,2	1,802 = 39,4
„ „ 50 „	1,86 = 131	2,45 = 53,9	1,65 = 116,1	0,925 = 20,37
B. Zimmertemperatur.				
	a) Sacch. Pastor. III mit eigenen Gärungsprodukten		a) Sacch. Past. III mit Gärungsprod. v. Hefe Frohberg	
ohne Zusatz	1,61 = 100	3,74 = 100	1,61 = 100	3,74 = 100
mit Zusatz 5 Proz.	0,642 = 39,6	1,446 = 38,66	0,879 = 54,6	2,84 = 75,9
„ „ 20 „	0,616 = 38,2	1,506 = 40,26	0,96 = 59,63	2,19 = 58,5
„ „ 50 „	0,61 = 37,6	1,58 = 42,25	0,419 = 56,0	1,88 = 20,26
	b) Hefe Frohberg mit eigenen Gärungsprodukten		b) Hefe Frohberg mit Gärungsprod. v. Sacch. Past. III	
ohne Zusatz	1,47 = 100	2,17 = 100	1,47 = 100	2,17 = 100
mit Zusatz 5 Proz.	0,71 = 48,3	2,37 = 109,15	0,502 = 34,15	2,63 = 121,2
„ „ 20 „	0,75 = 51,0	2,14 = 98,6	0,85 = 57,8	2,20 = 101,3
„ „ 50 „	0,43 = 29,25	1,74 = 80,18	0,82 = 55,7	1,64 = 75,57

Tabelle 15.

Alkohol in Proz. — Kellertemperatur.

Gärungsproduktenzusatz	5 Proz.				20 Proz.				50 Proz.			
Gärdauer nach Tagen	8	14	28	42	8	14	28	42	8	14	28	42
Pastor. III + Gärungsprodukte Pastor.	—	1,8	2,7	3,36	—	2,1	2,6	3,05	—	1,31	2,10	2,61
Pastor. III + Gärungsprodukte Frohberg	0,33	0,44	1,5	2,2	0,4	0,425	0,9	1,7	0,17	0,95	1,04	1,7
Frohberg + Gärungsprodukte Frohberg	—	0,24	0,85	2,1	0,06	0,68	1,1	2,88	—	0,32	0,54	1,7
Frohberg + Gärungsprodukte Pastor.	—	0,72	1,448	2,46	—	0,71	1,856	2,38	0,41	0,67	1,65	2,25
Gesamtsäure in Proz.												
Pastor. III + Gärungsprodukte Pastor.	0,9	3,3	4,1	8,5	1,6	4,0	6,2	10,0	0,1	2,14	7,5	16,0
Pastor. III + Gärungsprodukte Frohberg	0,2	1,4	4,6	12,4	0,5	0,8	7,0	13,6	1,0	4,4	4,6	10,8
Frohberg + Gärungsprodukte Frohberg	0,12	0,6	3,2	12,9	0,4	1,0	4,6	10,4	1,0	2,1	2,8	8,2
Frohberg + Gärungsprodukte Pastor.	1,2	5,3	10,1	10,24	1,0	2,85	4,5	5,0	0,2	0,55	3,36	8,6

Alkohol in Proz. — Zimmertemperatur.

Gärungsproduktenzusatz	5 Proz.				20 Proz.				50 Proz.			
Gärungsdauer nach Tagen	4	8	14	28	4	8	14	28	4	8	14	28
Pastor. III + Gärungsprodukte Pastor.	1,74	3,00	4,44	4,844	1,76	3,06	4,506	4,93	1,347	2,50	3,79	4,9
Pastor. III + Gärungsprodukte Frohberg	0,96	2,5	2,75	4,87	2,03	2,7	3,33	4,9	0,64	2,0	3,05	4,75
Frohberg + Gärungsprodukte Frohberg	1,01	1,5	2,6	4,7	1,32	2,26	2,85	4,8	0,68	1,82	3,35	4,55
Frohberg + Gärungsprodukte Pastor.	0,8	2,23	3,52	4,80	1,26	2,22	3,65	4,51	1,32	2,79	3,96	4,82
Gesamtsäure in Proz.												
Pastor. III + Gärungsprodukte Pastor.	6,1	7,7	10,9	16,5	5,2	7,6	11,6	14	2,35	4,35	8,2	10,8
Pastor. III + Gärungsprodukte Frohberg	3,3	5,8	10,2	14,2	2,2	8,2	8,4	14	3,4	9,25	11,2	14,0
Frohberg + Gärungsprodukte Frohberg	1,4	3,4	6,2	10,1	1,2	4,1	4,3	11,5	2,2	5,0	6,4	11,9
Frohberg + Gärungsprodukte Pastor.	12,9	14,5	19,3	21,2	9,2	15,2	15,6	15,6	6,56	9,76	10,66	14,26

Nachdruck verboten.

Studies upon plum blight.

By **L. R. Jones**, Prof. of Botany in the Univ. of Vermont.

In August 1901 Professor F. A. Waugh reported that a peculiar blight was developing in his experimental plum orchard. In appearance the disease closely resembled the "twig-blight" of pears and apples, and he suggested that it was possibly due to the same organism. The investigation of the matter was placed in charge of L. P. Sprague, then laboratory assistant in botany, and the following account is based largely upon his results.

We were led to give more careful attention to this blight than its economic importance as shown in the present outbreak would seem to warrant, because the occurrence of a similar trouble has been reported to us on previous occasions and in other orchards. Moreover, a serious outbreak of what seems to have been the same blight is reported by Professor Sturgis of the Connecticut Experiment Station and is discussed in the eighteenth report of that station (1894) p. 117. The disease is there described as destructively prevalent in a large plum orchard. Bacteria were present in the blighting branches and thought to be responsible for the trouble, but they were not isolated and the matter was left for further study [1]). It seemed, therefore, that we ought to attempt to settle the question when so favorable an opportunity was presented.

Occurrence. The variety upon which the blight was first observed was Cheney (Prunus americana nigra). These trees were in a row about ninety feet north of a badly blighting row of pear trees. The plum trees were four years old growing in a well-fertilized clay soil which had been kept moist by the frequent rains prevailing that spring. As a result, the trees had thrown out many vigorous young shoots, and the blight was confined to these. During 1902 similar conditions have existed and the blight again developed in midsummer, being most conspicuous during August, although its inception evidently occurred earlier. All the branches from which the organism was isolated both years were of the Americana group of Prunus, but Prof. Waugh, who has observed the distribution of blighted twigs in the orchard both summers, says it has seemed equally prevalent on various members of the Hortulana group of Prunus, and he concludes that its distribution has been determined rather by the location of the trees in the orchard in proximity to blighting pear trees than by the relative susceptibility of varieties.

Appearance. Numerous young shoots scattered over each tree were blackened and apparently dead for from six to eighteen inches back from the tip, closely resembling in appearance the twig

1) Since the completion of our studies as here recorded we learn from Dr. Smith that the pear blight organism has also been isolated from plums by Mr. M. B. Waite.

blight on neighboring pear and apple trees. The bark on these was dark brown above, but this blended below into the normal color of the healthy twig. Several twigs were observed in which the appearance of blight was confined to zones girdling each of several nodes, indicating that the inception of the disease occurred at or near the nodes and almost simultaneously at several places along the branch. On many of the shoots, but not all, cracks had opened in the epidermal covering, exposing a dry or nearly dry gummy matter. Upon cutting into the diseased twigs small pockets of nearly dry gummy matter were occasionally found. The shoots near the tip were drying while below they were still moist and flexible. The leaves were brown and dead as far back as the discoloration of the bark extended, and in the longer standing cases had already fallen from the tip of the shoot. The inner bark in the lower and hence more recently blighted portions was discolored — brownish — but still moist. Microscopic examination of this moist inner cortical tissue just above the place where the diseased bark blended with the healthy bark revealed myriads of bacteria, and the gummy masses were found to be filled with similar organisms. These organisms agreed in size and appearance with those from a pure culture the pear blight organism, Bacillus amylovorus. After careful removal of the outer portions with a flamed knife, bits of this discolored inner tissue at the point where the discoloration was just beginning to show and including the cambium layer and the outer wood were used in making poured plates.

Several such plates have been poured at different times during the summer of 1901 and 1902, and by three different persons, L. P. Sprague, H. D. Bone and L. R. Jones. The result has been in all cases an abundant development of white colonies of what has proved to be the same organism. To permit of comparison plates were poured at the same time and in the same way from blighting pear twigs and the results obtained were like those from plum. As a quick method of testing the organisms thus isolated, inoculations were made into green pear fruits in August or early September, using Bartlett in the earlier part of the season and an unknown variety of small winter pear later. The method is substantially that suggested to us by Mr. Merton B. Waite of the U. S. Department of Agriculture. The end was cut from such a pear with a recently flamed knife and a needle stab inoculation of the organisms made into the exposed flesh near the core. The results were in all cases alike with the suspected organisms secured from plum and with the bacillus obtained from the pear, viz., in about 48 hours at room temperature, 20—22° C, the exudation of pearly or opalescent bead-like viscid drops, dotting the cut surface of the inoculated fruit for some distance (0,5 cm or more, from the point of inoculation. These droplets were teeming with bacteria and microscopic and cultural examination of these confirmed the conclusion that they were the pear blight organism. These droplets slowly enlarged in size until they merged together,

forming large drops half covering the cut surface of the fruit and the general death and decay of the tissues soon resulted.

Numerous tests were also made by the method of direct inoculation into these green pear fruits of bits of the blighting stem-tissues from plum and pear, also with the gummy exudate from the blighted plum twigs. The result in practically all cases was the prompt development of the opalescent beads teeming with organisms which appeared identical whether plum or pear tissues were used for the initial inoculations. To place the matter beyond possible doubt, however, careful cultural studies were untertaken by Mr. Sprague, who carried the two strains of organism — one obtained from blighting pear, the other from blighting plum — through parallel series of cultures extending over eight months, time and including a variety of media and leading to still more conclusive inoculation experiments. In every detail the behavior of the two strains was identical.

Inasmuch as there has been no account of this organism upon many of the culture media tested and the facts observed were in some respects different from those given in Chester's description[1]), it seems worth while to give the following brief summary of the morphological and cultural characters observed. In all cases the methods and media employed were, unless otherwise stated, like those of the studies of Bacillus carotovorus, discussed in this Centralblatt, Vol. VII. p. 12, and in the thirteenth report of the Vermont Experiment Station, and the cultures. were grown at approximately 30°.

Morphological characters.

Form. A bacillus; usually single or in pairs, sometimes chains of threes and fours in young cultures.

Size. Young broth cultures 0,9 μ to 1,5 μ long by 0,7 μ to 1 μ wide; longer (up to nearly 3 μ) and slightly narrower in older broth cultures.

Grouping. Slight tendency to pellicle formation and numerous small zoogloeoid masses in broth cultures.

Staining. Stains readily with the usual watery or alcoholic solutions, also by Gram's method.

Capsule. None observed.

Flagella and motility. Fairly motile in young cultures, less so in old ones. Flagella stains (Löwit's method, from 24 hour agar slants) not satisfactorily made but showed several peripheral flagella apparently 4—8 μ long; also structures doubtfully considered giant whips, 14 to 34 μ long.

Spores. None demonstrated.

Physiological characters.

Nutrient broth. Good growth; clouding perceptible in eight hours, increasing to third day but never heavy as compared with B. carotovorus, B. coli communis, etc.; pellicle and rim slight; moderate amount of gray-white deposit.

1) Chester, F. D., A manual of det. bact. p. 173 and 176.

Gelatin. Plate: buried colonies spherical, granular; surface colonies white, margins entire; tube: slow crateriform liquefaction confined to upper layers.

Agar. Plate: buried colonies white, spindle-shape or spherical, granular; surface colonies white, circular, elevated, wet-shining, margins irregular. Stab: growth along entire length. Slant: white, wet-shining streak, thin along middle, heavier along sides, margins wavy, spreading in a few days over surface of slant. Carbohydrate-agars: more rapid growth induced by additions of 2 % cane or of grape sugar or of maltose or of 5 % glycerine. No gas in shaken tubes of plain agar or in above-named carbohydrate agars.

Milk. Coagulation in 3 to 4 days, followed soon by gradual digestion to a pasty condition with separation of supernatant whey; no color. (Above is usual course, but in some cases digestion se, in before coagulation was complete, in others digestion was slower).

Blood serum. Growth similar to agar. No liquefaction.

Dunham's solution. Rapid growth but clouding not dense, no pellicle or rim or zoogloeoid masses and deposit slight.

Cooked vegetables. Slanted cylinders, partially immersed in water, of potato, carrot, beet turnip. Good growth in all, best in beet, weakest in turnip. In or all alike a wet-shining white streak along line of inoculation; liquid heavily clouded, white and nearly opaque. Tissues not softened, no odor, gas or pigment.

Temperature relations. Optimum 25—30° C; no growth at 0,5° C (broth); very slow growth at 3° C. Recently inoculated broth tubes were rendered sterile by ten minutes immersion in thermal bath at 43,7° C and similar exposure at 43° C retarded growth.

Oxygen relations. Facultative anaerobe. Slight growth in closed branch of fermentation tubes, and in tubes sealed immediately after inoculation; very slight in oxygen-free atmosphere (Buchner method); slight in hydrogen; no appreciable growth in carbon dioxide.

Acid and alkali production. There is a slight excess of acid development in most media during the first few days (e. g. milk, broth), but this is soon overcome by a predominence of alkali production. (Litmus milk: color bleached before perceptible reddening. Rosolic acid peptone solution faded, but original color returned after two weeks. Milk cultures titrated against phenolphtalein as follows: Before inoculation, 2,1 %; fifth day, 3,0 %; eighth day, 2,6 %; seventeenth day, 1,4 %).

In the presence of certain carbohydrates there was a predominence of acid development. Thus broth cultures tested with litmus paper reacted as follows: all before inoculation being alike distinctly alkaline to litmus (neutral to phenolphthalein):

Plain broth: Progressive slight decrease of alkalinity during first week, at no time reaching point of acid reaction, then gradual return to alkalinity during second and third weeks reaching original reaction at end of month, thereafter remaining constant.

Broth + 2 % saccharose: Progressive loss of alkalinity during

first three days, neutral on fourth, progressive increase of acidity until on the fourteenth day it was distinctly acid.

Broth + 2 % glucose: Acid development slightly slower than in cane sugar but the condition the same on the fourteenth day.

Broth + 2 % lactose: Little if any change in reaction during two weeks.

Reduction processes. Nitrate-broth showed no development of nitrites. Litmus milk and rosolic acid peptone-water both showed progressive bleaching during the first week. (Less rapid than B. carotovorus.) During the second week color slowly returned, reaching original condition at end of fourth week.

Indol. Considerable produced (less than B. coli communis but more than B. carotovorus).

Hydrogen sulphide. None detected from broth cultures.

Odor. No characteristic odor perceived from any culture.

Desiccation. Drying on cover-glasses, at about 20° C. for various periods up to five days had no appreciable effect; 16 days caused slight retardation in development; 76 days was fatal.

Insolation. Ten minutes exposure of freshly poured agar plates to March sunlight retarded development somewhat; 30 minutes was fatal.

Gas production. None in shaken tubes of carbohydrate agars (see agars); none in fermentation tubes containing broths with 2 % of either glucose, saccharose, lactose, or glycerine.

Pigment. None, growth white or grayish-white on all media used.

Inoculation experiments.

These have included numerous repetitions of those into green pears (one-half to three-fourths grown) following the method previously described and practically always with like results. As heretofore stated, the fruit in these cases was placed in a closed chamber at 20—22° C. Inoculations were also made at two different times with pure cultures of both strains (from plum and from pear) by needle stabs into immature Bartlett pears which were left clinging to the parent tree. In every such case the inoculations led to similar results, namely, the death and browning of the tissues, accompanied by the exudation of numerous white viscid bead-like droplets upon the surface first about the point of inoculation and later over the entire surface. The blight thus started usually invaded the fruit spurs and in some cases girdled the parent branch.

Inoculations made into detached pear fruits approaching maturity gave less prompt and characteristic development than with the younger fruits and greater liability to contamination.

Inoculations made in the same way into sectioned detached unripe plums, using pure cultures, led to development similar to that on pears as evidenced by the exudation on the cut surface of beaded drops teeming with the organism. These drops were, however, less milky in color than from pear, indicating a less vigorous development of the bacillus. As the plums approached

maturity such inoculations were not uniformly successful. Stab inoculations into seven unripe plum fruits left clinging to the tree led in three cases to the death and decay of the fruits, apparently due to the development of the organisms inoculated, but in none of these cases did the disease extend into the twig.

A second series of inoculations into the plum fruits as they were approaching maturity led to no development or decay.

Numerous inoculation experiments were undertaken in September, using pure cultures of both strains, into young (first year) shoots of plum and pear in the orchard. These included some sixty inoculations into as many different twigs, some of the wounds being covered with sterile grafting wax, and some with moistened paper and cloth, but in no case was there any signs of infection or blight as a result.

During the winter seedling plums were grown in the greenhouse. When these were a few inches high in February and March, inoculations were made by needle punctures near the tip into 18 plants from agar culture including both strains of the organism. None of these led to any blight. These inoculations were twice repeated with the same negative results.

At the same time seedlings of pear were started. Only one of the seedlings grew. This was inoculated (about March 1) by needle puncture near the tip of the stem from an agar culture of the plum blight strain of the organism. Blight developed promptly, so that at the end of five days the stem was blackened from the point of inoculation to its apex and nearly to the base, and the discoloration was invading the petioles and bases of the leaves. At this juncture a poured plate was made from the interior tissue of one of these blackening leaf bases and the original organism was found in abundance and recovered in pure culture.

For further inoculation tests in pear at this time the only available plants were cuttings made in the autumn and started in sand. These were now well clothed with young shoots and six of them were selected for the trial. Needle prick inoculations were made in the case of each stem into the base of three of the young shoots, from young agar cultures. Of the 18 shoots thus inoculated, 9 (3 stems) were from cultures taken from the plate obtained from the blighting leaf just mentioned above, i. e., plum organism passed through pear, 6 (2 stems) were from the original plum strain, and 3 (1 stem) were from the pear strain. Every shoot inoculated developed the characteristic blight within 3 days from the date of inoculation, and at the end of a week every such young shoot was dead and the blight was spreading both up and down from the base of the shoot, as shown by the discoloration and sinking of the bark. In places, upon all, the characteristic viscid opalescent drops of exudate were found teeming with the organism, in some cases so abundant as to coalesce and run down the stem or upon partial drying to gum the leaves together or to the sides of the stem. In every case the behavior was similar and typical of pear blight.

It was planned that the inoculation experiments should continue farther and include a repetition of those upon pear and plum twigs in the orchard in spring and early summer, but Mr. Sprague, who was conducting these, went to the Rhode Island Station as assistant, at this point, and was unable to carry on the work.

In conclusion, we may briefly summarize the results of the inoculation experiments as follows:

The two strains of organism, from plum and from pear, behaved alike in all cases.

Inoculation into unripe pear fruits, either with bits of diseased bark or with pure cultures, led alike to characteristic growths. Ripening lessened the susceptibility of the fruit.

Inoculations into sections of unripe plum led to growth only under very favorable conditions and inoculations into ripening fruit failed altogether.

Inoculations into plum branches were in no case successful.

Inoculations into pear shoots failed when they were in a semi-dormant condition (September), but led to rapid blighting when vigorous growth was occurring.

It is seen at once that these results fail of complete solution of the problem undertaken in that successful inoculation of plum branches was not accomplished. It is shown conclusively that the plum is much more resistant to the invasion of the blight organism than is the pear, and infection probably is possible only when conditions are peculiarly favorable during spring and early summer, a season of the year when no inoculations were attempted.

Beitrag zur Kenntnis der Rostpilze.

Von **Ernst Jacky**, Schweiz. agrikulturchem. Anstalt, Bern-Liebefeld, Schweiz.

(Schluß.)

Es lassen sich aus diesem Versuche folgende Schlüsse ziehen: Puccinia Helianthi Schw. ist eine Aut-eu-Puccinia, die Pykniden, Aecidien, Uredo- und Teleutosporen auf derselben Nährpflanze erzeugt; sie vermag außer auf Helianthus annuus auch auf H. cucumerifolius und H. californicus zu leben; dagegen scheint sie nicht befähigt zu sein, auf H. tuberosus, H. Maximiliani, H. multiflorus, H. scaberrimus und H. rigidus überzugehen.

Die Nichtinfektion von H. tuberosus ist zugleich eine Bestätigung der Versuche Woronin's (l. c.) und weist darauf hin, daß Puccinia Helianthorum Schw. nicht identisch sein kann mit Puccinia Helianthi Schw., daß sie vielmehr wiederum als selbständige Art abzutrennen ist, zu der vorläufig auch die Formen auf H. Maximiliani, H. rigidus, H. scaberrimus und H.

multiflorus zu stellen wären. Ob die von den Autoren auf H. angustifolius, decapetalus, divaricatus, doronicoides, giganteus, grosse-serratus, heterophyllus, hirsutus, laetiflorus, mollis, occidentalis, petiolaris, strumosus und tracheliifolius angegebenen Rostpilze zu Puccinia Helianthi oder zu P. Helianthorum zu ziehen sind oder ob unter diesen wiederum verschiedene Arten verborgen sind, darüber können nur weitere Kulturversuche im Verein mit vergleichenden morphologischen Untersuchungen Aufklärung verschaffen.

5. Puccinia Prenanthis (Pers.) Lindr.

In meiner Arbeit über Compositen bewohnende Puccinien (l. c. p. 53) hatte ich die auf Lactuca-Arten auftretende Puccinie unter dem alten Corda'schen Namen Puccinia Chondrillae von Puccinia Prenanthis (Pers.) Fuckel sowohl auf Grund kleiner morphologischer Eigentümlichkeiten als besonders auch infolge mehrerer negativer Versuchsergebnisse als selbständige Art abgetrennt. Inzwischen haben sich H. und P. Sydow[13]) veranlaßt gesehen, den Namen Puccinia Chondrillae fallen zu lassen und statt dessen den Pilz als Puccinia Lactucarum Syd. nov. nom. zu bezeichnen. Als Grund dazu gaben sie an, daß, weil die alte Chondrilla muralis jetzt zur Gattung Lactuca gehöre, und weil Puccinia Chondrillae auf keiner heute zur Gattung Chondrilla gestellten Art vorkomme, der Pilz folgerichtig nicht mehr Puccinia Chondrillae heißen könne, da dies Verwirrung (?) geben könnte, sondern mit einem neuen Namen, nämlich Puccinia Lactucarum Syd. bezeichnet werden müsse. Ueber dieses sonderbare Vorgehen in der Nomenklatur hat sich bereits Magnus[14]) geäußert, und ich muß mich ihm anschließen, wenn er (l. c.) sagt, „diesen so begründeten Namen wird wohl kein ernstlicher Pilzforscher annehmen". Neuerdings hat J. J. Lindroth[5]) in klarer und überzeugender Weise ausgeführt, daß der auf Lactuca muralis lebende Pilz am richtigsten als Puccinia Prenanthis (Pers.) Lindr. zu bezeichnen sei, da Persoon sein Aecidium Prenanthis auf Lactuca muralis beobachtet und beschrieben habe. Währenddem Bubák[4]) dieser Ansicht nicht beipflichten kann und daher vorschlägt, auf die alte Benennung Puccinia formosa (Schlecht.) zurückzugreifen, haben P. und H. Sydow in ihrer Monographie den Lindroth'schen Namen, allerdings „nur unter Vorbehalt" angenommen. Die Befürchtungen Sydow's (l. c.) und Bubák's (l. c.), es möchte dieser Name zu Mißverständnissen Anlaß geben, kann ich nicht teilen.

Was nun weiter die von Sydow ursprünglich für Puccinia Prenanthis (Pers.) Lindr. auf Lactuca-Arten vorgeschlagene

13) Sydow, H. u. P., Zur Pilzflora Tirols. (Oesterr. bot. Zeitschr. Jahrg. 1901. No. 1.)

14) Magnus, P., Einige sachliche und litterarische Bemerkungen zu H. und P. Sydow, Zur Pilzflora Tirols. (Hedwigia. Bd. XL. 1901. p. [30].)

Bezeichnung Puccinia Lactucarum anbelangt, so sei erwähnt, daß Lindroth (l. c.) dieselbe nunmehr für den auf Lactuca perennis auftretenden Pilz anwendet. Er trennt denselben von der Art auf Lactuca muralis ab sowohl auf Grund morphologischer Unterschiede als auch auf Grund der von mir[1]) seiner Zeit erhaltenen negativen Versuchsergebnisse. Ich hatte damals darauf hingewiesen, daß die Nichtinfektion von Lactuca muralis infiziert mit Aecidiensporen von Lactuca perennis darauf hinzuweisen scheine, daß wir es mit spezialisierten Formen zu thun haben und erwähnte in Klammern die f. sp. muralis und f. sp. perennis. Prioritätshalber wäre daher der Pilz auf Lactuca perennis wohl eher als Puccinia Lactucae perennis zu bezeichnen und der von Sydow seiner Zeit nur als nomen novum eingeführte Namen Puccinia Lactucarum wäre am besten ganz fallen zu lassen.

Vollständigkeitshalber sei hier noch erwähnt, daß die auf Prenanthes purpurea auftretende Art nach Lindroth nunmehr als Puccinia Prenanthis-purpureae (DC.) Lindr. zu bezeichnen ist.

Nach diesen notwendigen Abweichungen betreffs der Nomenklatur dieser Puccinien gelange ich zum Bericht über einen mit Puccinia Prenanthis (Pers.) Lindr. angestellten Kulturversuch. Trotz gegenteiliger Mitteilung in Sydow's Uredineen-Monographie. p. 108 hatte ich bei meiner Bearbeitung der Compositen-bewohnenden Puccinien keine Kulturversuche mit diesem Pilz ausgeführt. Diese Lücke hatte ich in diesem Jahre Gelegenheit auszufüllen.

VII. Versuch.

Mit Aecidiensporen von Puccinia Prenanthis (Pers.) Lindr. auf Lactuca muralis, die ich am 8. Juni 1902 in der Taubenlochschlucht bei Biel (Schweiz) gesammelt hatte, besäete ich 2 Tage später, am 10. Juni, folgende Pflanzen:

VII 1. Lactuca muralis. { Zwei im gleichen Topfe stehende Pflanzen.

VII 2. { Eine Lactuca muralis / Drei Prenanthes purpurea } im gleichen Topfe stehend.

VII 3. Prenanthes purpurea. } Drei im gleichen Topfe stehende Pflanzen.

Am 25. Juni (Inkubationsdauer 15 Tage) war ein Erfolg auf den zwei in Topf VII 1 und auf der einen in Topf VII 2 stehenden Lactuca muralis eingetreten, indem sich an der Unterseite zahlreicher Blätter weißliche, in der Mitte bräunliche Pusteln, die Uredo-Lager, zeigten. Am 7. Juli hatten sich auf den beiden Lactuca muralis von VII 1 auf 10 Blättern neben 44 primären Uredo-Lagern ungefähr 150 sekundäre Lager gebildet, die häufig, aber nicht in allen Fällen, in konzentrischer Weise um die primären Lager angeordnet sind. Die in Topf VII 2 stehende Lactuca muralis zeigte an 3 Blättern zusammen

34 primäre Uredo-Lager nebst ungefähr 50 sekundären Lagern. Im September erfolgte auf allen Lactuca-Pflanzen neben fortgesetzter Erzeugung von Uredo die Bildung von Teleutosporenlagern. Während des ganzen Versuches blieben die 6 Prenanthes purpurea von VII 2 und VII 3 vollkommen rostfrei, wie auch nicht geimpfte Kontrollexemplare von Lactuca muralis und Prenanthes purpurea.

Dieser Versuch steht somit in Uebereinstimmung mit den Infektionsversuchen vom Jahre 1897[1], in welchem Lactuca muralis, besäet mit Teleutosporen, Aecidiensporen und Uredo-Sporen von Puccinia Prenanthis-purpureae (DC.) Lindr. von Prenanthes purpurea stammend, sich stets negativ verhielt. Durch Versuch VII wird daher meine damalige Annahme, es sei die Puccinia Prenanthis (Pers.) Lindr., von Lactuca muralis stammend, auf diese Nährpflanze spezialisiert, vollkommen bestätigt.

Referate.

Weiss, R., Ueber die Bakterienflora der sauern Gärung einiger Nahrungs- und Genußmittel. (Arb. a. d. bakter. Inst. d. techn. Hochsch. z. Karlsruhe. Bd. II. 1902. p. 165.)

Schon frühzeitig ist erkannt worden, daß bei der sauren Gärung pflanzlicher und auch tierischer Stoffe Bakterien die Ursache sind. Viele von diesen Milch- und Essigsäurebakterien wurden isoliert und in Reinkulturen gezüchtet. Für die Technik hat sich dies als vorteilhaft erwiesen, da viele Gärungen bereits mit Reinkulturen eingeleitet werden. Für seine Untersuchungen hat sich Verf. die Aufgabe gestellt, aus den gärenden Medien die Bakterien zu isolieren und ihre Säuerungskraft zu untersuchen. Als Ausgangsmaterial wurden freiwillige Gärungen von Bohnen, Rüben, Gurken, Spargel teils mit, teils ohne Zusatz von Salz oder Essig benutzt. Auch Rübenschnitzel und Träber wurden untersucht. Die Bakterien wurden dann mit allen Vorsichtsmaßregeln isoliert und auf verschiedenen Nährsubstanzen, deren Zubereitung angegeben wird, gezüchtet. Gefunden wurden 16 schon bekannte und 49 neue Arten.

Die neuen Arten werden auf ihre Fähigkeit, Säure auf verschiedenen Nährsubstanzen zu erzeugen, besonders eingehend untersucht. Die Resultate dieser titrimetrischen Untersuchungen sind in besonderen Tabellen zusammengestellt worden. Es geht daraus hervor, daß sich die einzelnen Nährböden für die Produktion der Milch- und Essigsäure nicht verschieden verhalten. Besonders erwünscht ist eine am Schluß der Arbeit gegebene übersichtliche Darstellung über alle bisher bekannten Milchsäurebakterien mit ihren Eigenschaften.

Da es nicht möglich ist, auf die Eigenschaften der neuen Arten einzugehen, mögen wenigstens ihre Namen hier Platz finden: Streptococcus citreus, maximus; Micrococcus pulcher, regularis, irregularis, umbilicatus, minimus, gummosus, mucilagineus, vulgaris, piliformis, expressus, granulatus, subluteus, tener, glandulosus, vesicosus, mucilaginosus, fulvus; Bacillus fortissimus, opacus, spirans, fuliginosus, eminans, ventricosus, citricus, odoratus, amygdaloides, robustus, tuberosus, globulosus, fungosus, flavescens; Bacterium granulosum, variosum, spinosum, crenatum, plicativum, brevissimum, ramificans, gibbosum, gracillimum, squamatum, uniforme, insulsum, subcitricum, gracilescens; Pseudomonas lactica, Listeri.

Lindau (Berlin).

Kunz, R., Vorkommen und Bestimmung der Milchsäure im Weine. (Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel. 1901. No. 4. p. 673.)

Die bisherigen Annahmen, daß sich nur in verdorbenen Weinen größere Mengen von Milchsäure infolge von Organismenwirkungen vorfinden, ist nach den Untersuchungen des Verf.'s unrichtig; es soll vielmehr die inaktive Gärungsmilchsäure einen normalen konstanten Bestandteil eines jeden Weines bilden; außerdem soll sie sich in Mengen vorfinden, welche gar häufig sämtliche anderen Säuren des Weines übertreffen. Die quantitative Bestimmung der Milchsäure gründet sich nur darauf, daß die Säure (in wässeriger Lösung durch Aether extrahierbar) mit Wasserdämpfen nicht flüchtig ist und daß sich das milchsaure Barium zum Unterschiede von den Bariumverbindungen der übrigen im Weine vorkommenden Säuren leicht in einer aus 2 Teilen 95-proz. Alkohol und 1 Teil Wasser bestehenden Mischung löst. Es wird die Arbeitsweise alsdann näher beschrieben. Die mit Mischungen der verschiedenen im Weine vorkommenden Säuren und Milchsäure ausgeführten Versuche lieferten ganz befriedigende Resultate; nur gelingt es nicht, der wässerigen Lösung die letzten Reste Milchsäure, selbst bei längerer Extraktion, zu entziehen. (Daß die Milchsäure mit Wasserdämpfen überhaupt nicht flüchtig ist, dürfte wohl auf einem Irrtum des Verf.'s beruhen, da nach anderweitigen mannigfachen Beobachtungen bei der Destillation von flüchtigen Säuren mit H_3O-Dämpfen immer, wenn auch nur geringe Mengen von Milchsäure mit übergehen. Der Ref.)

Heinze (Halle a./S.).

Hunger, F. W. T., Die reduzierenden Körper der Oxydase- und Peroxydase-Reaktion. (Berichte d. deutsch. botan. Gesellsch. 1901. Bd. XIX. p. 374.)

Vielfach bleibt die Oxydase- und Peroxydase-Reaktion aus; jedoch nicht etwa aus dem Grunde, weil keine oxydierenden Enzyme in dem betreffenden Untersuchungsobjekt vorhanden sind,

sondern deshalb, weil bestimmte andere Stoffe anwesend sind, welche die Guajakreaktion auch mit H_2O_2 verhindern. Von solchen wird die Uebertragung des Sauerstoffs entweder direkt aus der Luft bestritten oder nach Zerlegung des H_2O_2 an die Guajakonsäure. Es tritt alsdann keine Blaufärbung ein, weil das Guajakblau ein Oxydationsprodukt der Guajakonsäure darstellt. Beispielsweise gehören die Gerbstoffe zu den störenden Beimengungen, da dieselben Sauerstoff für ihre eigene Oxydation anziehen. In gleicher Weise wirkt Zucker (z. B. im Innern reifer Cocosnüsse) auf die vorhandenen Oxydasen reduzierend ein.

Heinze (Halle a./S.).

Emmerling, O. und **Reiser, O.**, Zur Kenntnis eiweißspaltender Bakterien. (Berichte d. deutsch. chem. Gesellschaft. Bd. XXXV. 1902. p. 700 ff.)

Von den Verff. werden in der vorliegenden Arbeit die Ergebnisse einer näheren Untersuchung des Bac. fluorescens liquefaciens (Flügge) wiedergegeben. Eine 10-proz. Lösung von Leim — und zwar beste Handelsgelatine — wird durch die Thätigkeit der erwähnten Organismen an der Oberfläche zunächst rasch verflüssigt, während in tiefer gelegenen Schichten natürlich eine langsamere Einwirkung statthat. Von dem im Leim enthaltenen N-haltigen organischen Stoffen waren nach mehrmonatlichem Stehenlassen der Kulturen zum mindesten 25 Proz. in Ammoniak übergeführt. Vor allem aber fehlten vollständig die charakteristischen Fäulnisprodukte, wie Phenole, Indol, Skatol, Schwefelwasserstoff. Selbst bei sehr langer Einwirkungsdauer waren nicht unbeträchtliche Mengen von Leim lediglich bis zu den Peptonen gespalten worden. Von den Verff. konnten weiterhin von Aminen einmal Methylamin und Trimethylamin und dann auch Cholin und Betaïn nachgewiesen werden. Daraus geht hervor, daß man nach den Verff. im Bac. fluorescens weder einen Fäulniserreger noch einen Erzeuger von giftigen Ptomaïnen vor sich hat, sondern lediglich einen Mikroorganismus, welcher vorwiegend Eiweißstoffe peptonisiert und dieselben alsdann allmählich zu einfachen Aminen bez. Ammoniak abbaut. Zur Untersuchung der Bakterien bezüglich der Art ihres proteolytischen Enzyms wurde Blutfibrin verwendet. Als Spaltungsprodukte treten auf: Tyrosin, Arginin, Leucin, Asparaginsäure; daraus geht hervor, daß das Enzym des Bac. fluorescens ein ausgesprochen tryptisches ist. Seine Wirkung ist jedoch äußerst langsam und unvollständig und ähnelt hierin außerordentlich dem Papayotin. Durch den vorliegenden Organismus werden jedoch auch einfachere Stickstoffverbindungen, wie z. B. der Harnstoff, angegriffen, und zwar in Ammoniumkarbonat übergeführt. Wenn Toluol vorhanden ist, so verhalten sich die Bakterien gegen Saccharose, Maltose und Laktose und weiterhin auch gegen Amygdalin, α- und β-Methylglykosid vollständig indifferent; indessen werden Stärke und Trehalose langsam hydrolisiert. Durch Wasserabspaltung wird Apfelsäure auffallenderweise in Fumarsäure umgewandelt.

Von den Verff. wird alsdann noch eine synthetische Wirkung des Bac. fluorescens erwähnt. Es bilden sich nämlich in älteren Bouillonkulturen zähe, schleimige Massen, in denen eine chitinartige Bakterienhülle vorliegt, wie man dies in ähnlicher Weise beim Bacterium xylinum kennt. Heinze (Halle a./S.).

Hiltner, L., Ueber die Impfung der Leguminosen mit Reinkulturen. (Deutsche landw. Presse. 1902. p. 119.)

Nach den Ergebnissen eines Impfversuches mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien bei gelben Lupinen schließt Remy, daß die Knöllchenbakterien von dem Augenblicke an, in dem sie die lebende Pflanze verlassen, an Wirksamkeit abnehmen und demnach auf künstlichem Nährboden ihre Wirksamkeit einbüßen. Remy hält den direkt übertragenen Knöllcheninhalt für wirksamer als die Reinkultur, wenigstens glaubt er dies speziell bei der gelben Lupine annehmen zu müssen. Gegen diese Ansicht wendet sich Verf. und weist darauf hin, daß der Versuch Remy's in nicht ganz einwandsfreier Weise durchgeführt wurde, da Remy keine artechte Reinkultur vor sich hatte und diese überdies an Wirksamkeit viel zu wünschen übrig ließ. Die Schlußfolgerung Remy's mag ja für die von ihm gewonnenen Reinkulturen richtig sein, aber Verf. bestreitet die Verallgemeinerung. Zu dem Versuche mit gelben Lupinen wurde von Remy dieselbe Impferde, wie zu den blauen Lupinen verwendet. Wenn die in dieser Erde enthaltenen Knöllchenbakterien aber bei der blauen Lupine fast das Maximum des bei Gefäßversuchen möglichen Ertrages bedingten, so folgt daraus noch nicht, wie Remy meint, daß sie auch gegenüber der gelben Lupine sich ähnlich verhalten müßten; nach Verf.'s Ansicht wäre gerade das Gegenteil zu erwarten. Remy hat die Impferde von einem seit Jahren mit Lupine bestellten Felde entnommen. Eine Angabe darüber, ob dieses Feld mit gelben oder blauen Lupinen bestellt war, fehlt, und doch hängt davon das Versuchsergebnis wesentlich ab. Durch besondere Versuche hat sich Verf. vergewissert, daß die Bakterien der 2 wichtigsten Lupinenarten sich wohl gegenseitig vertreten können, aber weit weniger, als es z. B. zwischen den Bakterien der Erbse und Wicke der Fall ist. Entstammte die Erde, mit der Remy arbeitete, von einem mit blauen Lupinen bestandenen Felde, so erklärt es sich ohne weiteres, warum bei dem ersten, mit blauen Lupinen durchgeführten Versuche, die Ueberlegenheit der Reinkultur über die Impferde gering war, denn man könne die Wirksamkeit der Knöllchenbakterien nicht künstlich über jenes Maß hinaussteigern, die sie bei mehrmaligem Anbau der ihnen zusagenden Wirtspflanze auf demselben Felde erlangen.

Sollte die Impferde von gelben Lupinen oder von einem mit einer Mischung beider Lupinenarten bestanden gewesenen Felde herstammen, so hält Verf. den ganzen Versuch Remy's für schwer deutbar. Denn, daß auch im Boden die Wirksamkeit der durch mehrmaligen Anbau derselben Pflanzenart völlig angepaßten Bakterien schon von einer Vegetationsperiode zur anderen eine so erhebliche Abweichung erfährt, steht mit jeglicher praktischen Er-

fahrung in Widerspruch. Verf. hält nach wie vor die Anwendung von Reinkulturen zur Impfung von Leguminosen für das einfachste und erfolgreichste Verfahren. Stift (Wien).

Saida, K., Ueber die Assimilation freien Stickstoffs durch Schimmelpilze. (Ber. d. deutsch. botan. Ges. 1901. p. [107].)

Daß Schimmelpilze freien Stickstoff assimilieren, dafür lagen bisher nur Beobachtungen bei Aspergillus niger und Penicillium glaucum vor. Verf. dehnt seine Untersuchungen auf andere Fadenpilze aus und weist nach, daß Phoma betae, Mucor stolonifer und Aspergillus niger stets freien Stickstoff assimilieren, Endococcus purpurascens nur bei Anwesenheit bestimmter Stickstoffverbindungen, Aerostalagmus cinnabarinus, Monilia variabilis und Fusisporium moschatum dagegen überhaupt nicht.

Die Kulturen der Pilze wurden in Erlenmeyer'schen Kölbchen angestellt, die mit 50 ccm Nährlösung beschickt wurden. An jedem Tage wurde durch die Kolben 1 Stunde lang ein Strom von gereinigter Luft geleitet. Die Versuche dauerten $2^1/_2$ Monat. Nach Abschluß wurde der Stickstoffgehalt des Pilzmycels bestimmt. Für Phoma betae wurde eine große Anzahl von Nährlösungen verwendet, am besten wurde Stickstoff assimiliert, wenn Zuckerrübendekokt in der Nährlösung vorhanden war. Ueberhaupt war die Stickstoffassimilation eine bessere, wenn kleine Mengen von gebundenem Stickstoff sich in der Nährlösung befanden. Ausführliche Tabellen geben über das Verhalten des Pilzes Auskunft.

Aehnliche Resultate wurden mit dem Mucor und Aspergillus erzielt, doch wurden die Nährlösungen weniger variiert. Endococcus assimilierte in Lösungen ohne gebundenen Sauerstoff keinen Stickstoff, wurde dagegen Pepton hinzugethan oder Dextrose mit wenig Ammoniumkarbonat, so erfolgte eine deutliche Assimilation. Die 3 oben an letzter Stelle genannten Pilze zeigten niemals eine Stickstoffaufnahme aus der Luft, obwohl in den Nährlösungen mannigfache Variationen gemacht wurden.

Lindau (Berlin).

Marpmann, G., Ueber den Kreislauf des Stickstoffs und die sogenannte Denitrifikation in der Natur. (Sitzungsberichte der naturforschenden Gesellschaft zu Leipzig. Jahrg. 26 u. 27. Leipzig 1901. p. 1—10.)

Verf. gelangt zu folgenden Sätzen:

1) Die Pflanzen nähren sich von anorganischem Stickstoff, die Tiere von organischen Stickstoffverbindungen.

2) Nur bestimmte Arten von Bakterien, vielleicht auch von anderen Pilzen, besitzen das Vermögen, die Bestandteile der Luft zu assimilieren, und zwar nehmen die einen CO_2, die anderen N auf, und andere setzen den N in Ammoniak und diesen wieder in salpetrige und Salpeter-Säure um.

3) Vegetieren diese Pilze in oder an Pflanzen, so kann eine Symbiose eintreten, wie bei den nitrifizierenden Bakterien in den Wurzelknöllchen der Leguminosen.

4) Auch bei den Leguminosen assimiliert die Bakterie den Stickstoff und macht ihn für die Pflanzenzellen aufnahmsfähig.

5) Die Bakterien sind nicht imstande, Stickstoffmaterie zu freiem Stickstoff umzusetzen; Stickstoffgärungen giebt es nicht. Denn diejenigen Bakterien, welche die organische Materie zerstören, also die oxydierenden und reduzierenden Bakterien, können aus einem Stickstoffmolekül nicht den elementaren Stickstoff bilden. Es giebt ferner keine Organismen, welche Wasserstoff direkt absorbieren, mithin kann auch das Ammoniak nicht zur Ernährung unter Abscheidung von Stickstoff dienen. Es giebt nur 2 Prozesse, welche durch Bakterien verursacht werden und die auf Wasserspaltung beruhen: I. Die Oxydation unter Zerlegung des Wassers in 2 Hydroxyde: $2 H_2O = 2 OH + H_2$. Die beiden Hydroxyde bilden ein Molekül Wasser, und ein Atom Sauerstoff wirkt in statu nascendi: $2 OH = H_2O + O$. II. Anlagerung von Hydroxyd und Eintritt von Wasserstoff in statu nascendi (infolge Wasserzerlegung): $H_2O = OH + H$. Die OH-Gruppe wird hier von den Bakterien assimiliert, und der Wasserstoff tritt mit anderen Molekülen zusammen, als Endprodukte die Kohlenwasserstoffe, Schwefelwasserstoffe, Phosphorwasserstoffe, das Ammoniak etc. bildend. Das ist das Endresultat der Reduktion oder Fäulnis.

6) Der freie Stickstoff wird durch chemische Einwirkung von Nitriten auf Ammoniakderivate gebildet.

7) Die sogenannte Denitrifikation, d. h. die Entwickelung von Stickstoff, geht in sauren Flüssigkeiten, niemals oder schwierig in Flüssigkeiten alkalischer Natur vor sich.

8) Die Zersetzung des Düngers unter Entwickelung von Stickstoff muß die Bakteriengärungen in Nitro- und Nitritverbindungen voraussetzen.

9) Die vorstehende Zersetzung wird nicht durch Schwefelsäure, saure Salze, Phosphate etc. verhindert, sondern wohl durch Zusatz von Kalk, Kreide, Asche.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Schreiber, Karl, Fettzersetzung durch Mikroorganismen. (Archiv f. Hygiene. Bd. XLI. p. 328.)

In Fortsetzung der Arbeit Rubner's, welche eine Fettspaltung und Fettzehrung im Boden durch Bakterienthätigkeit nachwies, hat S. verschiedene Bakterien und Schimmelpilze unter differenten Bedingungen auf ihre Fähigkeit, Fett zu zersetzen — auch in Anaërobiose — geprüft.

Die Fettzersetzung wurde an reinem Mandelöl untersucht, welches mit 1 Proz. Peptonwasser, dem 1 Proz. Kochsalz und 0,5 Proz. kohlensaurer Kalk beigemengt war. Das Kalkkarbonat

sollte die entstehenden Fettsäuren binden. Zur Extraktion des Fettes diente der Soxhlet-Apparat, durch welchen das Neutralfett, die freien Fettsäuren und die gebundenen Fettsäuren gesondert erhalten wurden einerseits, andererseits, um rascher arbeiten zu können, wurde die aräometrische Methode der Fettbestimmung verwendet, unter Korrektur der von Soxhlet entworfenen Tabelle.

Um fettzersetzende Bakterien zu erhalten, wurde ein Cylinder sterilisiertes Butterschmalz für 2 Monate in Gartenerde vergraben und aus ihr dann durch Platten 30 verschiedene Stämme isoliert. Die Reinkulturen wurden auf das Fettgemisch gebracht und letzteres nach ca. 44 Tagen mittels der aräometrischen Methode analysiert. Zwei Bacillenarten und ein Schimmelpilz erwiesen sich als fettzersetzend. Die Fettzersetzung dreier aus der Erde isolierter Stämme von Bac. fluorescens liquefaciens verlief viel rascher und intensiver bei Impfung in eine Mandelölemulsion mit Kalk, als in eine Oelmischung mit Kalkzusatz. Lange künstliche Fortzüchtung, Beleuchtung, Bruttemperatur setzen auch die fettzersetzende Fähigkeit herab. Wie die von Rubner gefundene Art, so hat auch ein Bacillus φ von Schreiber neben der Fettspaltung eine Fettzehrung verursacht.

Von 4 untersuchten Schimmelpilzen, die Fett zersetzten, konnte eine Störung der Fettzersetzung durch die gebildeten freien Fettsäuren nicht konstatiert werden; ein Zusatz von kohlensaurem Kalk zur Oelmischung hatte deshalb hier nicht den fördernden Einfluß, wie bei den Bakterien.

Unter Sauerstoffabschluß erfolgt nur eine geringe Fettspaltung, nie aber eine Fettzehrung; das Vorhandensein von Sauerstoff ist deshalb eine Grundbedingung für die fettzerstörende Thätigkeit von Bakterien und Schimmelpilzen.

Durch besondere Versuche wurde endlich festgestellt, daß an der Fettzersetzung kein Ferment schuld sein kann, sondern daß dieselbe als eine Lebensthätigkeit der betreffenden Mikroorganismen, als eine „Fettvergärung“ aufzufassen ist.

Spirig (St. Gallen).

Conradi, H., Ueber den Einfluß erhöhter Temperaturen auf das Casein der Milch. (Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 5.)

Von der Ansicht ausgehend, daß die Wahrung der Zustandseigenschaften der genuinen Milch immer noch die Grundlage einer rationellen Milchhygiene bildet, empfiehlt Verf. bei Abtötung von Bakterienkeimen der Milch, thunlichst die Anwendung einer Temperatur über 75—80° C zu umgehen; denn er hat wahrgenommen, daß die Erhitzung über 80° C hinaus eine dauernde chemische oder physikalische Veränderung der Milch bewirkt, indem sie einerseits den normalen Koagulationspunkt der Milch bei Gegenwart von Calciumchlorid und verwandten Salzen (Magnesiumsulfat, Bariumchlorid u. a.) um 8—12° C herabdrückt, andererseits den

Vorgang der Labfällung hinausschiebt. Hingegen zeigt die 30 Minuten lang bei 70° C erhitzte Milch weder eine Erniedrigung der Koagulationstemperatur nach Salzzusatz noch eine Verzögerung der Labgerinnung.

Vom technisch-wissenschaftlichen Standpunkte ist es bemerkenswert, daß es, entgegen den Angaben anderer Forscher (Benjamin u. ...) dem Verf. gelang, wenn auch mit erheblicher Verzögerung gegenüber der Norm, die Labung von Milch zu erzielen, welche 40 Minuten lang bei 110° C erhitzt war. (In meinen Untersuchungen über die säure-labbildenden Bakterien habe ich beobachtet, daß das durch Bakterien erzeugte Labferment fähig ist, die 10—15 Minuten lang bei 110—120° C im Autoklaven sterilisierte Milch zu koagulieren. Ref.)

Gorini (Mailand).

Rosen, Felix, Studien über das natürliche System der Pflanzen. I. (Cohn's Beiträge z. Biol. d. Pflanzen. Bd. VIII. Breslau 1902. Heft 2. 83 Seiten.)

Verf. entwirft uns einen Stammbaum der Pflanzen, der nicht allein auf der Morphologie, sondern namentlich auch auf der Biologie aufgebaut ist. Von einer uns unbekannten Urform als gemeinsamer Wurzel leitet er 3 Urstämme ab: die Schizophytenreihe, die Flagellatenreihe und die Sarcodinenreihe. Uns interessiert hier nur die erste Reihe, welcher Verf. den III. Abschnitt seiner Arbeit widmet.

Während Ferdinand Cohn (1875) scharf betonte, die Schizomycetes hätten mit den echten Pilzen (Fungi) gar nichts zu thun, sondern gliederten sich an die sogenannten Spaltalgen, welche ihrerseits engere Beziehungen zu den echten Algen zeigen sollen, bestritt Zopf auch diesen Zusammenhang der Schizophyten mit den übrigen Pflanzen, und De Bary schloß sich seiner Meinung an, indem er behauptete, es stehen die Spaltpflanzen sehr isoliert im Systeme. Brefeld und namentlich Arthur Meyer (1897 und 1899) verwiesen die Bakterien zu den Pilzen; letzterer versetzte sie bekanntlich zu den Ascomyceten, wo sie zwischen den Hemiasci und Euasci ihren Platz finden sollen. Dieser Ansicht tritt Verf. scharf entgegen und führt folgende Gründe ins Feld:

1) Die Bildung der Ascosporen wird wesentlich anders beschrieben als die der Bakteriensporen. Diese Befunde in Einklang zu bringen, macht A. Meyer keinen Versuch. Endosporenbildung wurde aber nur bei 2 (der 5) Bakterienfamilien, nämlich bei den Bakteriaceen und Spirillaceen, beobachtet. Die übrigen mögen die Fähigkeit zur Bildung von Endosporen verloren haben, wie auch die Blaualgen. Auch läßt A. Meyer, ohne Gründe hiefür anzugeben, die Verwandtschaft der Spaltalgen mit den Spaltpilzen nicht zu. Konsequent bleibt er sich allerdings dabei, da es unmöglich ist, daß die Spaltalgen mit ihrer autotrophen Lebensweise Abkömmlinge von Pilzen seien.

2) Den Bakterien kommt freie Ortsbewegung zu, den Ascomyceten aber nicht. Während die Bakterien zu den Protophyten

gehören, gehören die Schlauchpilze zu den Metaphyten. Das Vermögen freier Ortsbewegung ist ja eine primitive Eigenschaft der Lebewesen, die nur den Protophyten zukommt. Bei höheren Pflanzen ist sie nur auf ganz bestimmte Zellen eingeengt.

Verf. rechnet in seinem Stammbaum zu der Schizophytenreihe die Schizomyceten und Schizophyceae, während er die Pilze aus der Flagellatenreihe über die Phytoflagellata, Chlorophyceen, Protococcales, Siphonales hinaus ableitet. Den ersteren Teil dieser Ansicht bekräftigt er durch folgende Punkte:

a) Die Schizophytenzelle (Cyanophyceenzelle und der Schizomycet) hat noch nicht die Differenzierung in Cytoplasma und Kern erreicht.

b) Bei den Schizophyten finden wir keinerlei autonome Chromatophoren, die im Plasma, rings von diesem umgeben, liegen.

c) Wäre die typische Chlorophyllassimilation die ursprüngliche, die gegebene Ernährungsweise der Pflanzen, so dürften wir erwarten, daß sie wohl bei den höheren Reihen durch allmähliche Umzüchtung wesentliche Abänderungen erführe, nicht aber bei den niederen. Thatsächlich ist es aber umgekehrt, und den denkbar größten Umfang von Abweichungen gegenüber dem Ernährungsmodus der höheren Pflanzen zeigt die Gruppe der Bakterien, welche die unterste Stelle des Systems einnehmen und den Anfang des genetischen Systems darstellen. Bei den Bakterien finden wir echtes Chlorophyll und Bakteriopurpurin; die Nitrobakterien gewinnen gar ihre Betriebskraft aus einem Oxydationsprozesse. Vielleicht konnten die ersten Erdbewohner, d. h. die ersten Bakterien, den molekularen Stickstoff assimilieren; diese Fähigkeit wurde nur von einzelnen unter Modifikationen beibehalten, von der Mehrzahl ihrer Nachkommen dagegen aufgegeben, da andere Stickstoffquellen zur Verfügung standen. Gestützt wird diese Ansicht durch die Leguminosen, die nur dann ausgiebig mit Hilfe ihrer Knöllchenbakterien Stickstoff speichern können, wenn ihnen im Boden keine Nitrate zur Verfügung stehen. Diese Erscheinungen des Stickstoffwechsels bei den Bakterien kann man wohl nur so erklären, daß diese als Vorstufe, d. h. als Ahnen der übrigen Pflanzen zu gelten haben.

d) Es giebt im Meere viele Bakterien; schon im Devon und Kulm finden wir Bakterien. Die noch älteren größeren Algenarten sind doch recht fraglicher Natur. Alle Produktion von organischer Substanz ist durchaus nicht auf die Sonne als Energiequelle angewiesen, wie uns eben Winogradsky's geniale Arbeiten gelehrt haben. Wir haben also in den Bakterien die ältesten Lebewesen vor uns, welche nicht von chlorophyllhaltigen Pflanzen abzuleiten sind.

Es empfiehlt sich noch, einen kurzen Blick auf den vom Verf. aufgestellten Stammbaum der Schizophyten zu werfen: Die niedrigste Familie sind eben die Bakteriaceen; ihnen gliedern sich am nächsten die Spirillaceen, die mit Spirochaete zu den Beggiatoen und Oscillarien überleiten.

Eine zweite Nebenreihe der Bacteriaceen beginnt mit den Coccaceen (Uebergang durch Micrococcus prodigiosus gegeben). An die Coccaceen werden die Chroococcaceen durch Merismopedia angeknüpft. Die dritte Nebenreihe der Bakteriaceen liegt in den Chlamydobacteria. In dieser Gegend wäre vielleicht der Anschluß der Bangiales und damit der Florideen zu suchen. Die übrigen Familien der Cyanophyceen (Nostocaceen, Scytonemataceen, Stigonemataceen, Rivulariaceen, Camptotrichaceen) zeigen keine nähere Beziehung zu den Bakterien und stellen die höchste Entwickelung der Schizophyten vor.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Bütschli, O., Bemerkungen über Cyanophyceen und Bakteriaceen. (Arch. f. Protistenk. Bd. I. Jena 1902. p. 41—58. Mit 1 Tafel.)

Die Mitteilungen des Verf.'s beziehen sich auf die feinsten Strukturverhältnisse der behandelten Organismen, unter denen hier natürlich die Bakterien im Vordergrunde des Interesses stehen. Bei Spirillum volutans wird die Hauptmasse der Zelle von einem mäßig stark färbbaren Körper gebildet, den der Verf. dem Centralkörper der Cyanophyceen gleichsetzt, an welchem er in Uebereinstimmung mit R. Hegler karyokinesenähnliche Teilungszustände beobachten konnte und dem er daher Kernnatur zuschreibt. Der Centralkörper von Spirillum enthält zahlreiche intensiver färbbare runde Körnchen, die sich als Hohlkugeln erkennen ließen. Er wird von einer äußerst dünnen Schicht alveolären Plasmas umgeben, das nur innerhalb eines in etwa 2 Schraubenwindungen um den Centralkörper sich hinziehenden Streifens etwas verdickt erscheint und an den beiden Enden der Zelle direkt in die hellen, an der Geißelbasis gelegenen Polfelder übergeht, die der Verf. schon früher beschrieben hat. Bei einem kleinen rundlichen Schwefelbakterium war im Gegensatz zu Spirillum deutlich ein wabiger Bau des Centralkörpers zu erkennen.

Im weiteren verbreitet sich der Verf. über den Bau der Geißeln bei den genannte nund einigen anderen Spaltpilzen.

F. Braem (Berlin).

Warming, E., Lehrbuch der ökologischen Pflanzengeographie. 2. Aufl., bearb. von **P. Graebner.** Berlin (Gebr. Bornträger) 1902.

Eigentlich ist es überflüssig, dem von allen Seiten anerkannten vortrefflichen Buche noch eine Empfehlung zu geben, denn allein die Thatsache, daß nach kaum 6 Jahren eine neue Auflage notwendig wurde, ist Empfehlung genug. Der Herausgeber der 2. Auflage hat es verstanden, alle Vorzüge der 1. beizubehalten. Die geringen Aenderungen fallen kaum ins Gewicht, dagegen macht die Ergänzung durch die neuesten, seit der 1. Auflage erschienenen Arbeiten das Buch um so wertvoller.

Warming behandelt in seinem Buche bekanntlich die Pflanzenvereine von großen pflanzengeographischen und biologischen Ge-

sichtspunkten aus. Er grenzt die einzelnen Vereine (Formationen) gegeneinander ab und versucht in ihre Lebensbedingungen einzudringen. Daß dabei das gesamte Pflanzenreich Berücksichtigung findet, ist selbstverständlich; die kryptogamischen Vereine nehmen denn auch einen breiten Raum ein.

Die äußere Ausstattung des Buches übertrifft die der 1. Auflage; auch dieser Umstand wird dazu beitragen, daß Warming's Buch sich neue Freunde erwirbt. Lindau (Berlin).

Hecke, L., Eine Bakteriosis des Kohlrabi. [Vorläufige Mitteilung.] (Zeitschr. für das landwirtschaftliche Versuchswesen in Oesterreich. Jahrg. IV. Heft 4. p. 469—476. Mit einer Tafel.)

Verf. untersuchte eine Erkrankung der Kohlrabi, die in Niederösterreich, wo der Gemüsebau feldmäßig betrieben wird, schwere Schädigung hervorgerufen hat. Die Kohlrabi, welche äußerlich nicht verändert erscheinen, zeigen beim Durchschneiden eine schwarze Aderung, die hervorgerufen wird durch eine Bräunung der Gefäße. Die Gefäße sind dabei erfüllt von einem dichten Bakterienschleim. Später treten in dem Kohlrabi häufig Höhlungen auf, welche allseitig abgeschlossen sind und ebenfalls von einem dichten Bakterienschleim erfüllt sind; auf dieses Stadium folgt manchmal eine innere mehr oder weniger trockene Fäulnis.

Der Erreger dieser Krankheit ist vom Verf. gezüchtet worden und hat sich mit Pseudomonas campestris Pammel nahe verwandt erwiesen. Bisher war diese Art als Erreger von Blattkrankheiten bei verschiedenen Kohlarten auch bei uns beobachtet worden, die Art des Auftretens in den Kohlrabis dagegen ist bisher weder aus Europa noch Amerika bekannt gewesen.

Appel (Charlottenburg).

Zimmermann, A., Ueber Bakterienknoten in den Blättern einiger Rubiaceen. (Pringsheim's Jahrbücher. Bd. XXXVII. 1901. p. 1—11. Mit 9 Textabb.)

Die Blätter von Pavetta lanceolata, P. indica u. P. angustifolia, ferner von Grumilea micrantha besitzen eigentümliche Verdickungen, die in ihrem Innern in großen Intercellularen regelmäßig Bakterien enthalten. Bei den drei erstgenannten Pflanzen finden sich diese Verdickungen über die Blattfläche verteilt, bei Grumilea fast ausnahmslos dicht am Hauptnerv vor. Sie sind mit bloßem Auge gut erkennbar und machen äußerlich den Eindruck von Oeldrüsen oder ähnlichen Bildungen. Bei den Pavetta-Arten beträgt ihr Durchmesser 0,5—1,5 mm, bei Grumilea sind die Knoten in der Richtung der Nerven stark in die Länge gestreckt, werden bis 8 mm lang und 1 mm breit.

Der Gewebekörper der Knoten besteht aus schwammartig miteinander verbundenen Zellen und ist gegen das übrige Blattgewebe durch eine 2—3-schichtige Scheide abgegrenzt, deren Zellen keine Intercellularräume zwischen sich lassen.

Die großen Intercellularräume im Innern der Knoten sind ausnahmslos mit Bakterien vollkommen gefüllt; diese treten einzig und allein in den Intercellularen auf, und zwar nur innerhalb der Knoten. Die Ausbreitung der Bakterien im übrigen Intercellularsystem des Blattes wird durch die lückenlose Scheide, welche die Knoten nach außen begrenzt, verhindert. Ob bei den verschiedenen Pflanzen jeweils nur eine Bakterienart auftritt oder ob sich mehrere Arten in den Knoten versammeln, hat Verf. noch nicht festgestellt.

Ueber die Art der Einwanderung der Bakterien in das Blattgewebe giebt die Beobachtung Zimmermann's Aufschluß, daß oberhalb der Knoten sich bei jungen Blättern stets eine Spaltöffnung befindet, die aber später gewöhnlich durch Ueberwucherung von den benachbarten Zellen aus abgeschlossen wird. Da schon in den jüngsten Entwickelungsstadien der Knoten Bakterien beobachtet wurden und da die letzteren bereits in Blättern zu finden waren, die sich noch mit der Oberseite paarweise berührten, kann man annehmen, daß die Bakterien sich ursprünglich zwischen den beiden Blattflächen eines Blattpaares angesammelt haben, um von hier aus durch die Spaltöffnungen in die Knoten zu gelangen. Ob die Knoten primär vorhanden sind oder ob sie erst unter Einwirkung der Bakterieninvasion entstehen, läßt sich nur durch das Experiment entscheiden; doch hält Verf. letzteres auch mit Recht für das Wahrscheinlichere.

(Die Knoten sind wohl zunächst als Gallenbildungen aufzufassen, zumal in den Zellen des Knotengewebes und der Grenzscheide an Zellwand und Zellinhalt gewisse Veränderungen stattfinden, die man auf chemische Reize zurückführen muß [Ref.].)

Jedenfalls sind die Untersuchungen Zimmermann's von besonderem Interesse, da sie von neuem den Beweis liefern, daß Bakterien im Innern des pflanzlichen Gewebes zu gedeihen vermögen. W. Busse (Berlin).

Sorauer, P., Ueber eine im botanischen Garten in Dresden aufgetretene Maiblumenkrankheit. (Ber. d. Bot. V. d. Prov. Brdb. Jahrg. XLIII. Berlin 1902. p. XXXIV.

Vereinzelte zurückgebliebene Maiblumenstolonen zeigten einen roten, in Alkohol löslichen Farbstoff. und Schwinden des Rindengewebes. Die Untersuchungen Sorauer's machten es wahrscheinlich, daß dieser „Schorf der Maiblumen“ durch Bakterien verursacht wird. Ludwig (Greiz).

Delacroix, G., Sur une nouvelle maladie de la pomme de terre en France. (Journal de l'agriculture. 1901. p. 7.)

— Sur une maladie bactérienne de la pomme de terre. (Comptes rendus des séances de l'académie des sciences. 1901. p. 2.)

An sehr zahlreichen Orten Frankreichs zeigte sich im Jahre 1901 eine neue Krankheit der Kartoffeln, welche in einem Absterben

der Stengel, der Blätter und schließlich der ganzen Pflanzen besteht, wobei auch die Knollen angegriffen werden.

Verf. fand in den noch lebenden Geweben, sowie in abgestorbenen Stengelteilen Bakterien, welche er identisch mit Bacillus Solanacearum Erw. F. Smith und für den Erreger der Krankheit hält, was auch durch Infektionsversuche erwiesen wurde.

Desinfektionsversuche mit wässerigen Formollösungen ergaben folgende Ergebnisse: Die Knollen wurden mit einem Gemisch von 1 Teil Formol und 300 Teilen Wasser 2 Stunden lang gebeizt. Die sich entwickelnden Pflanzen wurden 2mal in 3tägigen Intervallen mit derselben Lösung begossen, wobei 10—12 Liter per Quadratmeter gerechnet wurden. Die Resultate waren günstig. Die desinfizierten Parzellen ergaben nur 3 Proz. kranke Pflanzen, während die Kontrollparzellen 40 Proz. derselben aufwiesen.

Die Abhandlung in den Comptes rendus behandelt dasselbe, jedoch nur auszugsweise. Francé (Ung.-Altenburg).

Sorauer, Paul, Der Schneeschimmel. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. XI. 1901.)

Verf. giebt zunächst einen geschichtlichen und systematischen Ueberblick über den vorliegenden Pilz, der sich durch sein merkwürdiges plötzliches Erscheinen und Verschwinden so auffallend auszeichnet. Es ist kaum zweifelhaft, daß der Pilz die Conidienform einer Nectria darstellt, deren Schlauchfrucht wahrscheinlich erst nach einer Ruheperiode des Pilzes zur Entwickelung kommt. Es folgt sodann eine Reihe von Beobachtungen über das Auftreten des Schneeschimmels im Freien und über mit ihm angestellte Impfversuche. Am reichlichsten tritt das Fusarium nivale, welches durch große Feuchtigkeit begünstigt wird, bald nach der Schneeschmelze auf, in gewöhnlichen Jahren also im März. Während der Wind, wie Impfversuche zeigen, der stärkste Feind des Schneeschimmels ist, begünstigt der Frost die Ausbreitung desselben sehr.

Auf den durch den Frost getöteten Blättern der Wintersaaten, im Verein mit den abgestorbenen Unkräutern und dem angewehten Baumlaube findet sich die üppigste Schneeschimmelvegetation. Aber der Pilz begnügt sich nicht mit den vom Frost abgetöteten Organen, sondern tötet auch lebende Getreidepflänzchen, wie Beobachtungen im Freien und im Zimmer ausgeführte Infektionsversuche zeigten. Letztere ergaben auch, daß nur jugendliche, zarte Organe die notwendige Bedingung für das Zustandekommen der Erkrankung bieten. Mit Vorhergehendem sind also zwei Faktoren gegeben, welche das früher rätselhaft erscheinende Auftreten des Schneeschimmels während der Schneeschmelze erklären; 1) die das Pilzwachstum fördernde große Feuchtigkeit, 2) die durch die Schneedecke veranlaßte Zartheit der neu sich bildenden Organe. Hieraus folgt ferner, daß bei Roggen, Weizen und Gerste, da der Schneeschimmel am schädlichsten ist, wo zusammengewehter Schnee eine lange

liegenbleibende Decke gebildet oder wo die Saaten besonders dicht und üppig standen.

Nach dem Verschwinden der Schneedecke vertrocknen infolge der steigenden Frühjahrswärme und den häufigen Winden zunächst die mehr oberflächlich gelegenen Fusarium-Hyphen; in den tieferen und feuchteren Lagen gewinnen Bakterienkolonieen, wie Verf. beobachtete, die Oberhand und verrichten in kurzer Zeit ihr Zerstörungswerk. Hieraus ist auch das schnelle Verschwinden der Schneeschimmelschleier im Freien sehr gut erklärt.

J. Buchwald (Berlin).

Delacroix, G., Sur le piétin des céréales. (Bulletin de la société mycologique de France. T. XVII. 1901. fasc. 2. p. 1—9. Mit 2 Textfiguren.)

Verf. unternahm eingehende Untersuchungen zur Ueberprüfung der Ansicht von M. Mangin, daß der Hauptschädling bei der Ophiobolus-Krankheit des Getreides Leptosphaeria herpotrichoides und nicht Ophiobolus graminis sei.

Verschieden variierte Infektionsversuche mit den beiden Pilzen ergaben folgende Resultate:

1) Ophiobolus graminis ist ebenso imstande, das Getreide anzugreifen, wie Leptosphaeria herpotrichoides.

2) Die Intensität der Krankheit steht mit der Saatdichte in geradem Verhältnisse.

3) Leptosphaeria greift die Gewebe in gleicher Weise wie Ophiobolus an.

4) Das Lagern des Getreides findet bei beiden Pilzen in gleicher Weise statt.

Außerdem werden Angaben über die direkt beobachtete Keimung der Sporen von Ophiobolus graminis gemacht. Dieselbe erfolgt durch 2 Keimschläuche an beiden Enden der Spore, welche sich seitlich verzweigen. Zum Schlusse wird ohne nähere Diagnose eine neue, ebenfalls dem Getreide schädliche Leptosphaeria-Art (L. culmifraga nov. sp.) aufgestellt.

Francé (Ung.-Altenburg).

Delacroix, G., Sur une forme conidienne du champignon du black-rot (Guignardia Bidwelli) Ellis (Viala et Ravaz). (Comptes rendus des séances de l'académie des sciences, 1901. p. 2.)

Verf. fand seit 1893 sehr selten (3mal) auf den Sklerotien, Pykniden und Spermogonien von Guignardia Bidwelli eine Conidiennebenfruktifikation, welche sich von der durch Viala beschriebenen dadurch unterscheidet, daß sowohl das Stroma als auch die Conidien bräunlich sind und in allem den Cladosporium- oder Scoletotrichum-Formen gleichkommen, während jene andere Conidienform nach dem Acrocylindrium-Typus auftritt.

Nachdem nur Alkoholmaterial vorgelegen hat, konnte der Einfluß dieser Conidien auf die Verbreitung der Blackrotkrankheit nicht verfolgt werden. Francé (Ung.-Altenburg).

Noelli, Sull'Aecidium Isatidis Re 1821. (Malpighia. Vol. XV. 1901. p. 71—75.)

Filippo Re hatte schon 1821 ein Aecidium auf den Blättern von Isatis tinctoria aufgefunden und beschrieben. Daher hat Hariot (Journ. d. Bot. 1896. p. 300) diesen Bastard mit Unrecht als neu und selten aufgefaßt. Verf. hat sie auf denselben Arten wiederholt gefunden, wo es schon von Re (1821) und Mattirolo (1882) früher gesammelt worden war. Leider konnte Verf. die teleutosporentragende Form nicht auffinden.

Pantanelli (Modena).

Dumée, P. et **Maire, R.**, Remarques sur le Zaghouania Phillyreae Pat. (Bull. de la Soc. Mycol. de France. 1902. p. 17. Mit Textfig.)

Patouillard hatte aus Tunis ein eigentümliches Aecidium phillyrea beschrieben, dem er den Namen Zaghouania Phillyreae gab. Die beiden Verff. haben nun auf Corsica denselben Pilz gefunden, und zwar mit allen übrigen Fruchtformen. Die Pykniden sind flaschenförmig, die Aecidien sind halb eingesenkt und fast ganz von der Oberhaut der Wirtspflanze bedeckt. Die Pseudoperidie ist wenig entwickelt oder fehlt ganz. Die Aecidiosporen trennen sich sehr bald voneinander und sind von birn- oder kugelförmiger Gestalt; das Exospor ist mit Netzleisten versehen. Die Uredosporen zeigen nichts Besonderes, dagegen bieten die Teleutosporen Besonderheiten. Sie sind gestielt, einzellig, warzig und mit einem Keimporus an der Basis versehen. Sie entwickeln sich in den Uredosori. Noch während sie an den Stielen sitzen, beginnt die Keimung. Es tritt aus dem Keimporus ein dicker, ganz kurzer Keimschlauch aus, der sich in die bekannten 4 Zellen teilt. Eine oder zwei Zellen kommen niemals frei, sondern bleiben in der Spore sitzen. Auf Grund dieser eigentümlichen Keimung und auf Grund des wenig ausgebildeten Chlamydosporencharakters der Sporen weisen die Verff. der Gattung Zaghouania den Platz in der neuen Familie der Zaghouaniaceen an.

Die von früheren Autoren beschriebenen Aecidien und Uredo-Formen auf Phillyrea ziehen die Verff. zu dem vorliegenden Pilz.

Lindau (Berlin).

Dumée, P. et **Maire, R.**, Remarques sur les urédospores de Puccinia Pruni Pers. (Bull. de la Soc. mycol. de France. 1901. p. 308.)

Puccinia Pruni besitzt in demselben Sorus zwei verschiedene Arten von Uredosporen. Die einen sind typische, dünnwandige Uredosporen, wie sie bei Puccinia Regel sind, die anderen dagegen zeigen eiförmige Gestalt, besitzen stark verdickte Membran am Scheitel und sehen fast wie Teleutosporen eines Uromyces aus.

Es lag aber die Frage nahe, ob die letzteren Sporen nicht vielleicht zu einem Uromyces gehören und aus dem Entwickelungsgang der Puccinia zu streichen sind. Zur Entscheidung dieser Frage wurde der Kern untersucht. Nach den Beobachtungen früherer Forscher besitzen die Teleutosporen einen, die Uredo-

sporen dagegen zwei Kerne. Es wurden nun 2 kleine Kerne gefunden, ferner sind 2 oder 3 Keimporen da, während bei Teleutosporen die Einzahl die Regel ist. Daraus folgt mit größter Wahrscheinlichkeit, daß die erwähnten Sporen wirklich Uredosporen sind. Die Verff. versprechen, noch einmal auf die Frage zurückzukommen, wenn sie die Keimung untersucht haben.

Lindau (Berlin).

Magnus, P., Ueber eine neue unterirdisch lebende Art der Gattung Urophlyctis. (Ber. d. deutsch. bot. Ges. 1901. p. [145]. Mit Tafel.)

Im 1. Teil der Arbeit bespricht Verf. ausführlich die Merkmale der Gattung Urophlyctis und setzt die Unterschiede gegenüber Physoderma auseinander. Es sind ihm 5 Arten der Gattung bekannt, zu denen sich eine neue Art gesellt, welche Rübsaamen an den Wurzeln von Rumex scutatus bei St. Goar auffand.

Urophlyctis Rübsaameni n. sp. bildet knollig-kugelige Auswüchse an den Wurzeln. Diese besitzen im Innern einen Hohlraum, der in der mannigfachsten Weise verzweigt ist und in sich die Sporen des Pilzes birgt. Auf Querschnitten sieht man oft mehrere Hohlräume nebeneinander, aber auf Serienschnitten überzeugt man sich bald, daß alle diese scheinbar isolierten Räume zusammenhängen. In jungen Stadien erkennt man, daß die vom Pilz befallenen Zellen sich gewaltig vergrößern. Diese Riesenzellen drücken das zwischen ihnen gelegene Gewebe zusammen. Allmählich werden die Scheidewände der benachbarten Wirtszellen aufgelöst, so daß nur noch eine ringförmige Leiste von ihnen bleibt, die auch bald undeutlich wird. Endlich werden auch die Reste der Mutterzellwände und die Membranen der Parenchymzellen gelöst und es entstehen so Hohlräume, die schließlich ineinander fließen. Gleichzeitig bildet das umgebende parenchymatische Gewebe eine Korkschicht aus, die den Hohlraum der Galle vollständig umgiebt. Verf. beschreibt dann weiter, wie das Wachstum der Galle erfolgt und das Zusammenfließen der Hohlräume vorsich geht. Die Entstehung der Dauersporen konnte bisher nicht verfolgt werden. Lindau (Berlin).

Magnus, P., Ueber die in den knolligen Wurzelauswüchsen der Luzerne lebende Urophlyctis. (Ber. d. Deutsch. Bot. Ges. 1902. p. 291. Mit Taf. XV.)

v. Lagerheim hatte eine Wurzelkrankheit der Luzerne in Ecuador auf die Wirkung eines Pilzes zurückgeführt, den er Cladochytrium alfalfae nannte und später mit Physoderma leproides identifizierte. Verf. hatte Gelegenheit, Material dieser bisher aus Europa nicht bekannten Art aus dem Elsaß zu untersuchen und konstatierte ihre völlige Verschiedenheit von Urophlyctis leproides. Die Entwickelung der Höhlungen, in denen die Dauersporen des Parasiten gebildet werden, geht auf andere Weise vor sich, als bei jenem Rübenparasiten. Die Untersuchung

fand an überwinterten Pilzgallen statt, woraus sich das Fehlen von jungem Mycel erklärt. Verf. behält den Lagerheim'schen Namen bei und stellt den Pilz zu Urophlyctis. Die auf der Tafel gegebenen Figuren zeigen die Hohlräume in der Pilzgalle und die Habitusbilder von Gallenauswüchsen.

Lindau (Berlin).

Molliard, M., Sur une épidémie de Rot Brun aux environs de Paris. (Bull. de la Soc. Mycolog. de France. 1901. p. 280.)

Verf. berichtet von einer Monilia-Epidemie der Aprikosen bei Paris. Die Aprikosen hatten im April gut angesetzt, da trat plötzlich der Pilz auf und zerstörte die Knospen und Blüten. Das Mycel ließ sich leicht in der Rinde der Zweige nachweisen, wo eine gummöse Degeneration der Zellen erzeugt wurde. An der Basis der Knospen oder Blütenstiele fand sich denn auch häufig eine Gummiausscheidung. Kirschen- und Pflaumenbäume wurden nicht beschädigt, bei den Pfirsichen wurden nur die Früchte ergriffen.

Als Schutz wird empfohlen, die von der Monilia mumifizierten vorjährigen Früchte sorgfältig vom Baume oder vom Boden zu sammeln und zu verbrennen. Auch eine Bespritzung mit Kupfersulfat vor dem Auftreiben der Knospen wird gute Dienste thun.

Lindau (Berlin).

Sydow, H. et Sydow, P., Uredineae aliquot novae boreali-americanae. (Hedwigia. 1901. Beibl. p. 125.)

Die Verff. beschreiben eine Anzahl von neuen parasitischen Pilzen aus Nordamerika. Es sind folgende:

Uromyces Nothoscordi auf Blättern von Nothoscordon striatum, Puccinia Houstoniae auf Blättern von Houstonia angustifolia, P. Longiana auf Blättern von Ruellia tuberosa, P. Marianae auf Blättern von Chrysops marianae, P. Pinaropappi auf Blättern von Pinaropappus roseus, Ravenelia Longiana auf Blättern von Cassia Roemeriana, Uredo Hibisci auf Blättern von Hibiscus syriacus, Uredo floridana auf Blättern von Mentzelia floridana, Aecidium Tracyanum auf Blättern und Stengeln von Ruellia, A. Borrichiae auf Blättern von Borrichia frutescens.

Lindau (Berlin).

Kudelka, F., Ueber den Wurzelbrand. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1902. p. 83.)

Der Wurzelbrand tritt niemals auf Rüben auf, die von Beginn an freudig keimen und wachsen, sondern nur auf schwächlichen Rüben und solchen, die einen Stillstand im Wachstum in ihrer ersten Lebensperiode erfahren. Die Schwächlichkeit der Rüben kann in verschiedenen Umständen liegen. Die Anlage zur Schwächlichkeit liegt in einem Samen, der eine geringe Keimungsenergie besitzt. Keimungsenergie ist aber gleichbedeutend mit Wachstums-

energie in den ersten Stadien des Pflanzenlebens. Das schwache Wachstum des Keimlings und später der jungen Pflanzen macht letztere empfänglich für den Pilz Phoma Betae, der kein gewöhnlicher Parasit, sondern ein ausgesprochener Schwächeparasit ist, und einer kräftigen, normal entwickelten Pflanze nichts anthun kann.

Weitere Ursachen des Wurzelbrandes sind Kälte resp. große Temperaturänderungen in der ersten Lebensperiode der Pflanzen und der Boden. Böden, welche gerne verschlemmen und leicht abbinden, geben meist Wurzelbrand, nachdem der mechanische Schluß des Bodens und Mangel an Luftzutritt einen Wachstumsstillstand herbeiführen und die Pflanzen für die Krankheit empfänglich machen. Hier helfen am besten das Kalken und starke Scheideschlammgaben, auch müssen Hacke und noch besser Hacke und Walze so zeitig und intensiv wie möglich angewendet werden. Aehnlich wie durch Besserung ungünstiger physikalischer Verhältnisse des Bodens, kann dem Wurzelbrand durch die Bereicherung an assimilierbaren Nährstoffen — Phosphorsäure und Stickstoff — vorgebeugt werden. Diese Nährstoffe sind nun in Form von Superphosphat und Chilisalpeter am besten als Gemisch vermittelst einer kombinierten Säemaschine unter die Rübenreihen zu geben. Der Wurzelbrand kann ferner auch durch Insektenfrass, durch zu tiefes Unterbringen des Samens und zu tiefes Pflügen verursacht werden. Schukow hat nachgewiesen, daß mit der Tiefe der Unterbringung des Samens die Intensität der Krankheit wächst; hierbei muß die Pflanze längere Zeit auf Kosten der Reservestoffe des Samens leben, bleibt hierdurch schwächlich und ist infolgedessen empfänglich für die Invasion von Parasiten. Kudelka führt weiter aus, daß die in den österreichisch-ungarischen Samenkontrollstationen (soll wohl heißen „von einigen“ Stationen. Der Ref.) eingeführte Bestimmung der phomakranken Keimlingen für die landwirtschaftliche Praxis keinen Wert hat, nachdem derselbe Samen, der im sterilen Sand, dem in den Samenkontrollstationen zur Keimung verwendeten Medium, krank wird, in gutem Ackerboden gesunde Pflanzen und eine gute Ernte liefern wird, und umgekehrt, ein Samen, der in der Controllstation gesunde Keimlinge gab, bei ungünstigen Wetter- und Bodenverhältnissen oder zu tief untergebracht, Wurzelbrand geben wird, da es an Pilzkeimen, welche in schwachen Pflanzen Wurzelbrand hervorrufen können, in keinem Rübenboden fehlt. Dementsprechend ist auch das Beizen des Rübensamens behufs Tötung der am Samen haftenden Pilzsporen gut für Topfkulturen, aber nicht für den großen landwirtschaftlichen Betrieb.

In Zusammenfassung aller Erwägungen giebt Verf. folgende Maßregeln zur Vorbeugung des Wurzelbrandes: 1) Felder, auf denen sich erfahrungsgemäß der Wurzelbrand einstellt, sollen zuletzt bestellt werden. 2) Man pflüge nicht zu tief, insbesondere wenn man gezwungen ist, die tiefe Furche erst im Frühjahr zu geben. 3) Kalte, schwer thätige Böden mit ansehnlichem Feinsandgehalt, kalke man mit 20 Ctr. Aetzkalk, noch besser mit 200 Ctr. Scheideschlamm per Morgen. 4) Auf wurzelbrandigen

Böden säe man Rüben nie ohne Superphosphatdüngung. Am besten eignet sich die kombinierte Reihendüngungssäemaschine; schon 1 Ctr. 17prozentiges Superphosphat giebt dabei eine sehr gute Wirkung. Noch besser wirkt eine Mischung von 1 Ctr. Superphosphat und $^1/_3$ Ctr. Chilisalpeter per Morgen. 5) Man beachte alle Vorsichtsmaßregeln, daß der Rübensamen nicht zu tief zu liegen komme. 6) Auf wurzelbrandigen Böden verwende man nur gut ausgereifte und gut abgesiebte Samen von großer Keimungsenergie. 7) Felder, auf denen man Wurzelbrand vermutet, müssen so zeitig wie möglich gehackt werden; noch besser wirken abwechselnd Hacke und Walze. Stift (Wien).

Juel, O., Contributions à la flore mycologique de l'Algérie et de la Tunisie. (Bull. de la Soc. Mycolog. de France. 1901. p. 257. Mit 12 Fig.)

Bei einem Aufenthalte in Nordafrika sammelte Juel eine Anzahl von parasitischen Pilzen. Davon sind viele bisher nur ungenau bekannt gewesen, so daß die sorgfältigen Beobachtungen des Verf.'s eine wertvolle Ergänzung zur Diagnose dieser Pilze bilden.

Ustilago Scolymi zerstört die Blütenköpfe von Scolymus grandiflorus. Die Sporen bilden ein braunschwarzes Pulver und sind kugelig oder ellipsoidisch. Ihre Oberfläche ist netzförmig gezeichnet.

Uromyces Ferulae Juel gehört zu Aecidium Ferulae Rouss. und kommt auf Ferula communis vor. Man brachte bisher dies Aecidium mit Puccinia Ferulae zusammen, was nach den Beobachtungen Juel's unrichtig ist.

Ueber Puccinia Asphodeli Sacc. werden ausführliche Beschreibungen der Sporenlager mitgeteilt. Zur Gattung Uropyxis kann diese Art, trotzdem die Teleutosporen die hyaline Außenschicht besitzen, nicht gebracht werden, weil jede Teilzelle der Teleutosporen nur einen Porus besitzt.

Als neu beschreibt Juel Aecidium punicum und Taphridium algeriense. Ersterer Pilz findet sich auf den Blättern von Thapsia garganica und wurde früher von Patouillard als Aec. Ferulae bezeichnet. Vielleicht gehört der Pilz einer heteröcischen Species an.

Taphridium algeriense parasitiert in den Blättern von Ferula communis in Algier. Der Pilz bildet große dickwandige askenähnliche Sporangien, die mit zahlreichen ellipsoidischen Sporen angefüllt sind. Juel vermutet, daß das Mycel perenniert, da die Pflanze von unten an bis zur Spitze mit dem Parasiten behaftet ist. Der Pilz ist ein naher Verwandter von dem bisher Taphrina Umbelliferarum Rostr. genannten Parasiten. Beide Arten werden in die neue Gattung Taphridium Lagerh. et Juel gestellt (T. Umbelliferarum Lagerh.); ihre systematische Stellung ist nicht zweifelhaft, da der Bau der Sporangien ihr einen Platz unmittelbar neben Protomyces anweist.

Lindau (Berlin).

Hennings, P., Uromyces phyllachoroides P. Henn. n. sp. (Hedwigia. 1901. Beibl. p. 129.)

Der Pilz findet sich auf den Blättern von Cynosurus elegans in Tunis. Aeußerlich ähnelt er so sehr einer unreifen Phyllachora, daß er wahrscheinlich häufig schon damit verwechselt worden ist. Die Teleutosporen sind länglich bis birnenförmig, seltener ellipsoid oder spindelförmig, braun, glatt oder fein punktiert. Die Uredosporen stehen in kleinen hellbraunen Pusteln. Sie sind kuglig bis eiförmig, mit orangegelbem Inhalt und feinstachliger Membran. Sie werden von langen farblosen Paraphysen umgeben. Lindau (Berlin).

Hennings, P., Fungi blumenavienses II a. cl. A. Möller lecti. (Hedwigia. 1902. p. 1.)

Die in der vorliegenden Arbeit behandelten Pilze umfassen ausschließlich Ascomyceten. Die Formenfülle in der Pilzflora Brasiliens ist eine ganz erstaunliche und jede neue Sammlung fördert eine reiche Zahl von merkwürdigen neuen Arten ans Licht. Einen Teil der größeren Pilze hat Möller selbst bereits in seinem Buche: „Phycomyceten und Ascomyceten" beschrieben. Verf. beschreibt von den kleineren Formen, namentlich Discomyceten, noch eine große Anzahl. Es braucht hier auf die neuen Arten nur insoweit Rücksicht genommen zu werden, als sie Parasiten sind.

Nectria hypocrellicola wächst auf einer Hypocrella an Bambus. Myriogenospora Bresadoleana wächst auf der Mittelrippe der Blattoberseite von Paspalum und faltet die Blattlamina vollständig zusammen. Auf Insektenlarven finden sich Cordyceps caespitoso-filiformis, C. subcorticicola und C. subpolyarthra. Cenangium Sebastianae auf Zweigen von Sebastiania. Geopyxis bambusicola auf grünen Bambushalmen herdenweise. Lindau (Berlin).

Hennings, P., Fungi paraenses. II. (Hedwigia 1901. Beibl. p. 15.)

Die von Huber bei Pará gesammelten Pilze enthalten viele interessante Formen; ein Teil wurde bereits in Hedwigia 1900 veröffentlicht. Von Parasiten werden folgende neue Arten beschrieben: Uredo Oncidii auf Oncidium Lanceanum, Uredo Viticis polygamae auf Blättern von Vitex polygama, Uredo margine-incrassata auf Blättern von Lonchocarpus, Phyllachora dendritica auf den Blättern von Urostigma, Aschersonia paraensis auf Blättern von Psidium pomiferum, Cercospora Manihotis auf Blättern von Manihot, C. Arachidis auf Blättern von Arachis hypogaea.

Lindau (Berlin).

Giard, A., Sur le passage de l'hermaphroditisme à la séparation des sexes par castration parasitaire unilatérale. (C. R. hebd. Acad. Sc. Paris. T. CXXXIV. 1902. p. 146.)

In seinen Nouvelles recherches sur la castration parasitaire hat Verf. den Fall geschildert, daß bei Ophiuren (Amphiura squamata) durch die Wirkung eines Parasiten (Rhopalura ophiocomae) die Ovarienbildung unterdrückt, die Hodenbildung gefördert wird. Verf. verglich diese Erscheinung mit der Wirkung der Blastophaga grossorum auf Ficus Carica.

Aehnliche Wirkungsweisen kommen auch pflanzlichen Parasiten zu (Meehan in Proceed. of the Acad. of Nat. Sc. Philadelphia. 1900. p. 341): Bei Vernonia wurde durch die Entwickelung eines Pilzes die Ausbildung der Staubgefäße gehemmt.

Weiterhin gedenkt Verf. seiner früheren Mitteilung „Sur la transformation de Pulicaria dysenterica Gaertn. en une plante dioique“ (Bull. scientif. France et Belg. T. XX. 1889. p. 53): Die Blüten waren zum Teil nur männlich, zum Teil nur weiblich geworden. Neuerdings beobachtete Giard an derselben Species Infloreseenzen, die im Centrum normale Blüten besaßen, die randständigen Blüten glichen den zygomorphen Strahlenblüten von Centaurea. — Reduktion der Blütenzahl an derselben Pflanze wird nach Verf. verursacht durch einen wurzelbewohnenden Pilz.

In Corsica beobachtete Verf. zahlreiche Exemplare von Cupularia viscosa, die unter der Einwirkung von Pilzen in ihrem Habitus ähnlich verändert worden waren, wie die von Meehan beschriebenen Vernonien. Küster (Halle a. S.).

Miehe, H., Crapulo intrudens, ein neuer mariner Flagellat. (Ber. d. D. Bot. Ges. Bd. XIX. 1901. p. 434.)

An Nitophyllum punctatum beobachtete Verf. in Neapel verfärbte Thallusstellen, deren Zellen von zahlreichen Flagellaten erfüllt waren. Es handelte sich dabei um einen bisher nicht beschriebenen Organismus, den Verf. als Crapulo intrudens bezeichnet und der wahrscheinlich der Gruppe der Bodonaceen angehört.

Die Flagellaten leben gewöhnlich von dem Zellinhalt des Nitophyllum: In frisch infizierten Zellen enthalten sie zahlreiche, durch das aufgenommene Phycorerythrin rot gefärbte Nahrungsvakuolen. Sie verbreiten sich im ganzen Thallus, indem sie die Zellenwände durchbohren und so von einer Zelle in die andere vordringen. Die einzelnen Individuen pressen sich dabei mit dem Kopfende an die Membranen an, strecken ein kleines Plasmazäpfchen in die Zellhaut vor, die an dieser Stelle sich bald löst. In dem Augenblick, wo die Membran durchbohrt ist, stirbt die Zelle ab, und färbt sich rosa. Eine Reihe von Individuen schlüpft durch das Loch in die frisch getötete Zelle ein.

An stark verrotteten Stücken sah Verf. zu reihen- oder flächenförmigen Kolonieen vereinigt die Cysten der Flagellaten. In den Cysten findet eine Reihe von Teilungen statt, schließlich schlüpfen aus ihnen lebhaft bewegliche Schwärmer hervor.

Küster (Halle a. S.).

Abbé, Pierre, Nouvelles cécidologiques. (Revue scientifique du Bourbonnais et du Centre de la France. 1901. Nos de Novembre et de Décembre. p. 1–13 [S.A.].)

Folgende neue Cecidien werden hier beschrieben:

1) Auf Achillea Ptarmica L. Triebspitzengalle: Verkürzung der Internodien, die Endblätter gedrängt und verbildet; Larve in einem durch die schalenförmig gekrümmten Blätter freigelassenen Innenraum. Tephritis sp.?

2) Auf derselben Pflanze. Stengelspitze keulenförmig verdickt oder eingekrümmt; Larve in einer centralen Kammer. Länge der Galle: 8—10 mm. Tephritis sp.?

3) Auf Ammi majus L. Schwellung am Grunde der Doldenstrahlen, durch Lasioptera carophila Fr. Lw.

4) Auf Cardamine pratensis L. Unregelmäßige Schwellung am Grunde des Stengels oder eines Blattstiels, gerade oder gekrümmt, mit oder ohne beulenförmige Auftreibung. Metamorphose in der Erde. Ceuthorrhynchus cochleariae Gyll.

5) Auf Carum verticillatum Koch. Galle wie in No. 3.

6) Conium maculatum L. Galle wie in No. 3.

7) Auf Echium vulgare L. Eiförmige Wurzelschwellung, mit eirunder Larvenkammer; Galle 3 cm lang und 2 cm dick, die normale Wurzel 1 cm nicht überragend. Verwandlung in der Galle. Mecaspis cordiger Germ.

8) Auf Genista tinctoria L. Einseitige einkammerige Zweigschwellung, 10 mm lang, 3 mm breit; Breite des normalen Zweiges: 1,5 mm. Agromyza sp.?

9) Auf Lepidium campestre L. Beulenförmige Schwellung eines Blattstieles. Als Erzeuger wird Ceuthorrhynchus coerulescens Gyll. vermutet.

10) Auf Medicago media Pers. Hülse in eine kurze, eirunde, dickwandige und einkammerige Bildung umwandelt. Verwandlung in der Erde. Curculionide. (Sollte es sich nicht um eine Asphondylia-Galle handeln? Der Ref.)

11) Auf Pastinaca pratensis Jord. Galle wie in No. 3.

12) Auf Sarothamnus scoparius Wimm. Länglich eiförmige Zweigschwellung, 4—6 cm lang, 5 mm breit, bei einer Breite von 2 mm für den normalen Zweig; Larvenkammern zahlreich, in der Rindenschicht liegend, 3 mm lang und 1 mm breit. Verwandlung in der Galle. Apion immune Kirb.

13) Auf Sisymbrium officinale Scop. Beulenförmige, einseitige, eiförmige Schwellung eines Blattstiels oder einer Blattmittelrippe; meist einkammerig; Länge 7—18 mm; Breite 4 mm. Verwandlung in der Erde. Ceuthorrhynchus chalybaeus Germ. (moguntiacus Schulze).

Kieffer (Bitsch).

Massalongo, C., Di un elmintocecidio scoperto sopra la Koeleria cristata Pers. (Bollettino del Naturalista. Vol. XXI. 1901. No. 8.)

Für Koeleria glauca DC. war bisher eine Fruchtknotengalle bekannt, deren Erzeuger als identisch mit Tylenchus Phalaridis Steinb. gehalten wurde. Massalongo beobachtete eine ähnliche Galle auf K. cristata; ferner eine noch unbekannte Deformation der unteren Blütenspelze; diese besteht in einer lokalen, eiförmigen oder elliptischen, rein violett gefärbten, am Grunde oder am Rande vorkommenden Schwellung. Die befallenen Spelzen sind abnorm gebildet und verschiedenartig gekrümmt.

J. J. Kieffer (Bitsch).

Massalongo, C., Sopra alcune milbogalle nuove per la flora d'Italia. [Quarta comunicazione.] (Malpighia. Vol. XV. 1901. p. 75—91. Tav. I—IV.)

Nach einer allgemeinen Einleitung über die Bedeutung der

Gallenerforschung für alle Richtungen der Botanik, in welcher die neuen Arbeiten Oppel's (1899) und Küster's (1900) näher besprochen werden, und nach einem reichen bibliographischen Beitrag werden in Anlehnung an frühere Mitteilungen (Boll. d. Soc. Bot. Italiana. 1898) sieben Milbengallen aus den Umgebungen von Verona und Trento mit ihren Milben beschrieben, unter welchen mehrere auf neuen Substraten aufgefunden wurden.

Pantanelli (Modena).

Mönkemeyer, W., Hypnum fluitans L. mit Anguillulagallen. (Hedwigia. 1902. Beibl. p. 22. Mit Fig.)

Das Moos wurde in tiefen Tümpeln des Riesengebirgskammes gesammelt und zeigte dick angeschwollene Endknospen. In diesen befanden sich Aelchenkolonieen in verschiedenen Altersstadien. Die Pflanzen waren vollständig degeneriert, besonders zeigten die Blätter der Galle große Abweichungen im Bau und Zellnetz. Bekannt sind ähnliche Gallen bereits von Hypnum aduncum, von H. molluscum sind sie bisher nicht nachgewiesen.

Lindau (Berlin).

Thiele, R., Die Blutlaus. (Zeitschr. f. Naturwissenschaften. Bd. LXXIV. 1902. p. 361—430.)

Die Blutlaus, welche bekanntlich eine nicht geringe Zahl Synonyme führt, überwintert zum größten Teil im Zustande als parthenogenetisches Weibchen, während den aus den Wintereiern ausschlüpfenden Tieren nur ein verschwindend kleiner Prozentsatz zukommt. Das plötzliche Auftreten starker Blutlausherde findet seine Erklärung in der großen Fruchtbarkeit der Weibchen, welche befähigt sind, mit steigender Temperatur eine größere Anzahl junger Tiere zu produzieren. Diese Eigenschaft wird mit sinkender Temperatur geringer, während der auch die Intervallen der Metamorphose länger werden. Die Entwickelung des Insektes läuft demnach parallel der Temperatur. In dem gesamten Generationswechsel tritt insofern eine Anlehnung an die echten Aphidinen ein, als das charakteristische geflügelte Weibchen, welches die Fähigkeit besitzt, lebendig gebärende junge Tiere hervorzubringen, auch bei der Blutlaus, und zwar je nach der Temperatur im Juni oder Juli auftritt. Der gesamte Generationswechsel läßt sich künstlich an isolierten Topfobstbäumchen studieren.

Der den Blutläusen eigentümliche Flaum wird nicht erst von den ausgewachsenen Tieren produziert, sondern läßt sich in den Körperzellen der jüngst Geborenen bereits nachweisen, woselbst er eine Lagerung zeigt, welche der Form eines geöffneten Fächers entspricht.

Das junge, von der geflügelten Juni- bezw. Juli-Generation entstandene Individuum trägt, wenn auch nicht konstante, so doch anfangs in die Augen springende Abweichungen von dem der ungeflügelten Läuse zur Schau, einmal zeigen sie einen viel schlankeren Körperbau und weiterhin sind ihre Extremitäten in fast regelmäßigen Abständen mit borstenähnlichen Haaren besetzt.

Diese Differenzen gleichen sich im Laufe der Metamorphose wieder aus.

Was ihr Vorkommen anbetrifft, so ist sie mit wenigen Ausnahmen an die Apfelbäume gebunden und zieht unter diesen augenscheinlich das feinere Tafelobst vor, obwohl in anderem Falle auch weniger edle Sorten angegriffen werden. Verschiedene in der Litteratur befindliche Angaben, daß es Apfelsorten giebt, welche nicht von ihr heimgesucht werden, beruhen auf Irrtum; von der Blutlaus verschonte Apfelsorten giebt es nicht. Ebenso ist der sog. Krebs der Apfelbäume, dessen Ursache wahrscheinlich eine Nectria-Art ist, nicht ein Produkt der Laus, obwohl diese sehr gern auf seinen Rindenwülsten schmarotzt und ihm ein Aussehen verleiht, als sei er durch sie hervorgerufen.

Außer an Apfelbäumen kommt das Insekt häufig auf dem Weißdorn vor, woselbst es nicht selten bis faustgroße Gallen erzeugt, auf Birnen zeigt es sich seltener und ist bisher in keinem Falle imstande gewesen, sich dauernd auf derselben zu behaupten.

Bezüglich ihres Stammlandes ist eine Streitfrage zwischen deutschen und amerikanischen Fachgenossen aufgeworfen, und es ist nicht unwahrscheinlich, daß die Blutlaus deutschen Ursprungs ist, später aber von Amerika eine Re-Infektion stattgehabt hat. Innerhalb Deutschland ist, wie durch Fragebogen festgestellt wurde, das lästige Insekt mit wenigen Ausnahmen fast durchweg verbreitet. Ein bedauerlicher Irrtum hat sich insofern dabei im Original herausgestellt, als **Bayern** als völlig blutlausfrei bezeichnet wurde, während die bayerische Pfalz stark verseucht ist. Da Verf. jene Gegend nicht selbst bereisen konnte, mußte er sich auf die Fragebogen verlassen, denen jenes Versehen zugeschrieben werden muß, welches somit berichtigt sein möge.

Die Bekämpfung zerfällt in zwei größere Abschnitte, einmal die Vorbeugung, weiterhin die eigentliche Zerstörung der Kolonieen. Zur Vorbeugung ist zu rechnen die Anpflanzung guter gesunder Obstbäume, sowie deren rationelle Pflege, welche in einem zweckmäßigen Schnitt und in richtiger Düngung besteht. Weiterhin ist das Abkratzen der Rinde nebst Vernichtung der Abfälle, sowie das Ankalken und die Anlage von Fanggürteln aus Moos, sowie die Anlage von Klebringen nicht zu versäumen. Auch die Ueberwachung eingeführter Bäume und Reiser gehört zu einer gewissenhaften Prophylaxe.

Die zur eigentlichen Vertilgung notwendigen Mittel sind der Uebersicht halber in 5 Gruppen zerlegt, und zwar in

1) mechanische Mittel,
2) Mittel aus pflanzlichen Stoffen,
3) Mittel aus tierischen Stoffen,
4) chemische Mittel,
5) Insecticide.

Unter der Rubrik mechanische Mittel sind beschrieben: Das

Abreiben mittels rauher Gegenstände, das Abschneiden und Verbrennen befallener Aststücke, das Ausschneiden der Blutlauswunden und die Raupenfackel. Den mechanischen Mitteln ist vor allen anderen der Vorzug zu geben. Unter den aus pflanzlichen Stoffen bestehenden sind geprüft Leinöl, Rüböl, Terpentinöl, Harz, Quassia, Tabak, Solanum nigrum, Holzkohlenteer und Holzasche, zum Teil in reinem Zustande, zum Teil aber auch mit verschiedenen anderen Ingredientien als Zusatz bezw. Grundsubstanz. Die nächste Gruppe umfaßt Fett und Schmierseife in verschiedenen Variationen. Unter chemischen Stoffen finden wir: Wasser, Schwefel, Kalium, Natrium, Calcium, Kaliumalaun, Eisen, Quecksilber, Vaseline, Petroleum, Alkohol, Oxalsäure, Fuselöl, (Cyan), Gaswasser, Steinkohlenteer und Karbolsäure, die letzte Gruppe umfaßt folgende Insecticide: Lysol, Sapokarbol, Pinosol, Creolin, Benzolin, Knodalin, Neßler'sche Lösung, Insektengiftessenz, Koch'sche Flüssigkeit, Otto's konzentrierte Pflanzen- und Insektenessenz, Leineweber'sche Komposition, Halali, Göldische Tinktur. Von den genannten 86 Präparaten bewährten sich als thatsächlich blutlausvertilgende Mittel 33, also 38,372 Proz., welche in ausführlicher Weise besprochen sind, einen kurzen Anhang des Kapitels bilden die gebräuchlichsten und bewährtesten Spritzen. Endlich finden wir etwa zu ergreifende Verordnungen, welche nicht überall nach einem bestimmten Schema durchgeführt werden können, sondern jedesmal dem Charakter einer Gegend angepaßt werden müssen. Von einem allgemeinen Reichsgesetz gegen den Schädling ist vorläufig noch Abstand zu nehmen, da die Kenntnis des Insektes längst nicht eine so große Verbreitung zeigt, wie man anzunehmen geneigt ist. Vielfach hört man nämlich den Ausspruch „Die Wolllaus habe ich wohl, aber nicht die Blutlaus!“ Autoreferat.

Sajó, C., Die Kirschfliege und ihre Bekämpfung. (Oesterreichisches Landeswochenblatt. 1902. p. 66 u. 75.)

Trotzdem die Kirschenmaden allgemein bekannt sind, so ist doch die Entwickelung der Kirschfliege bis in die letzten Jahre sehr mangelhaft gewesen. Auffallend war von jeher, daß die Maden selbst nach solchen Jahren, in welchen der Frühlingsfrost die ganze Kirschenernte vernichtet hatte, im darauffolgenden Jahre dennoch oft massenhaft erschienen, und glaubte man zur Erklärung dieser Erscheinung ein Brüten dieser Insektenart auch in den Beeren von Lonicera und Berberis voraussetzen zu sollen. Verf. fand nun die Lonicera-Beeren durchaus frei von Maden und auch Berberis-Beeren enthielten die Maden der Kirschfliege nie, sondern diejenigen einer anderen Art. Die Kirschfliege (Spilographa cerasi = Trypeta cerasi) wird in Fliegenform selten bemerkt, weil sie klein ist und sich nicht gern auffallend macht. Die Larven leben meist im Fruchtfleisch der süßen Kirschen, seltener in den Sauerkirschen, ernähren sich vom Saft des Obstes ohne glücklicherweise Exkremente zu hinterlassen, leiten aber mißfarbige Veränderungen des Fruchtfleisches ein. Sobald die Maden

reif sind, verlassen sie die Kirschen und verpuppen sich in der Erde. Bisher nahm man an, daß aus den Puppentonnen im folgenden Frühjahr die Fliegen erscheinen, was jedoch nicht der Fall ist. Verf. hat diesbezüglich eingehende Untersuchungen angestellt, aus welchen folgendes hervorgeht. Die Kirschfliege braucht zu ihrer vollkommenen Entwickelung volle 2 Jahre, von welchem Zeitraum der größte Teil im Puppenstadium zugebracht wird. Im Boden befinden sich vom Juli bis Frühjahr immer Puppen zweier Generationen gemischt beisammen, von denen ein Teil im nächsten, der andere Teil erst im zweitnächsten Jahre Fliegen liefert. Durch größere Wärme wird ein frühzeitiges Hervorbrechen der Fliegen aus den Puppentonnen nicht herbeigeführt, so daß also die Wärme wenig Einfluß hat; doch dürften gewiß nicht leuchtende Sonnenstrahlen als erweckender Faktor scheinen, wenn der Sonnengang sich zum zweitenmale dem Sommersolstitium nähert. Feuchtigkeit und Dürre sind den Puppen vollkommen gleichgiltig.

Zur Bekämpfung der Kirschfliege sind verschiedene Umstände zu beachten. Nachdem die Kirschen vor dem Einmachen und Dünsten in Wasser gelegt werden, so verlassen die Maden das Obst und sammeln sich am Boden des Gefäßes an. Das Wasser soll dann vor dem Ausgießen gekocht werden. Wenn abgepflückte Kirschen in Körben lagern, sollte unter denselben eine etwa 10 cm starke Schicht Erde liegen, in welche die Maden zur Verpuppung einwandern. Diese Erdschicht kann dann während der ganzen Erntesaison als Falle dienen und wird dann ins Feuer geworfen. Größere Mengen schaufelt man in eine etwa 1 m tiefe Grube, bei welcher man oben einen freien Raum von etwa 20—30 cm Höhe läßt, den man mit Lehm ausfüllt und niederstampft, wobei die Lehmschicht an jeder Seite der Grube mindestens 15 cm übergreifen soll, damit den auskriechenden Fliegen das Entwischen unmöglich gemacht wird. Die Grube darf dann 2 Jahre nicht gestört werden und auch auf der Lehmschicht dürfen sich keine Unkräuter entwickeln, damit durch die tiefgehenden Wurzeln nicht für die Insekten ins Freie führende Wege hergestellt werden. Sehr viele Maden wandern aus reifen Kirschen, wenn sie noch am Baum hängen, aus, und verbergen sich in der Erde unter der Baumkrone. Im Spätherbst ist dann diese Erde einen Spatenstich tief auszuheben, in eine Grube zu werfen und wie früher zu behandeln. Im übrigen sind alle Behälter, in welchen Kirschen lagern, gut zu untersuchen und die lichthellen Puppentonnen, welche Pflanzensamen ähnlich sehen, zu sammeln und zu verbrennen. Ein natürlicher Feind, der die Larven und Puppen unermüdlich zu verfolgen scheint, ist die Rasenameise (Tetramorium caespitum), doch ist zweifellos, daß außer dieser auch andere Ameisenarten und nebenbei noch verschiedene Laufkäfer und Raubinsekten aus anderen Kerfenfamilien nützlich wirken. Stift (Wien).

Jacobi, A., Der Ziesel in Deutschland. [Vorläufige Mitteilung.] (Arbeiten Biol. Abt. am Kais. Gesundheitsamte. Bd. II. 1902. p. 506—511. 1 Abb.)

Die von der Biologischen Abteilung unternommenen Versuche zur praktischen Nagetierbekämpfung wurden auf den Ziesel ausgedehnt, da Anzeichen vorhanden waren, daß dieser Nager sich in einzelnen Strichen Deutschlands lästig machte. Verf. stellte deshalb eigene Untersuchungen auf dem großen Schießplatz zu Lamsdorf in Oberschlesien an, sammelte außerdem die in der Litteratur vorhandenen oder unter der Hand bekommenen Angaben, während an die landwirtschaftlichen, forstlichen und sonstwie in Frage kommenden Kreise der betroffenen Landesteile von amtlicher Seite ein Fragebogen verschickt wurde. Dieser betraf jetziges oder früheres Vorkommen des Ziesels, Einwanderung, Wohnplätze, Häufigkeit, Schäden und Volksnamen. Das nachgeprüfte und berichtigte Ergebnis der ganzen Erhebung ist das folgende: Der Wohnbezirk des Ziesels im Deutschen Reiche wird ungefähr durch folgende Punkte begrenzt. Im Süden Schlesiens Poppelau im Kreise Rybnik, im Südosten Myslowitz, von wo aus die Ostgrenze über Karlsruhe, Grudschütz und Breslau nach Glogau verläuft, während Grünberg den äußersten Punkt im Norden, Lauban im Westen, Reichenbach und Lamsdorf im Südwesten bedeuten. Gänzlich abgesondert von diesem östlichen Wohngebiete liegen einige Kolonieen des Ziesels auf dem Nordabhange des sächsischen Erzgebirges, welche aus dem zieselreichen Böhmen eingewandert sind. Die in Deutschland gebräuchlichen Volksnamen für Spermophilus citellus (L.) sind: Ziesel (vom slavischen Susel, Suslik), Zieselmaus, Erdmaus, Sandmaus, Erdhund, Krietschel. Wo das Tier häufiger vorkommt, wie im Kreise Falkenberg O.-S., bei Breslau und Glogau, wird es landwirtschaftlich schädlich durch Vernichtung ansehnlicher Mengen von Getreide, Hülsenfrüchten, Klee und Wurzelgemüsen, angeblich auch von Kartoffeln. Weit unangenehmer wird indessen vielfach die Wühlthätigkeit dieses Nagers. Da seine Baue meist in freiem, oft in vielbegangenem Gelände angelegt sind, so kommen Fußgänger wie Reiter und Zugtiere durch die Unterhöhlung des Bodens in Gefahr, wie sich dies namentlich auf den Exerzierplätzen bei Lamsdorf und Glogau bemerkbar macht. Die bisherigen Vertilgungsverfahren erwiesen sich gegen volkreiche Ansiedelungen nicht als wirksam, ebenso wie die von Flügge in Lamsdorf versuchte Verbreitung einer Bakterienseuche keinen dauernden Erfolg gehabt hat. Dagegen gelang dem Verf. eine gründliche Vernichtung durch Schwefelkohlenstoff nach demselben Verfahren, welches er zur Hamstervertilgung empfohlen hat (Flugblatt etc. No. 10). Jacobi (Berlin).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Eckles, C. H., A comparison of media for the quantitative estimation of bacteria in milk. (Proc. Ja. Acad. of Sci. VIII. p. 139—140.)

— —, A method of isolating and counting gas-producing bacteria in milk. (Proc. Ja. Acad. of Sci. VIII. p. 144—145.)

In der ersten Arbeit giebt der Autor an, daß das gewöhn- Peptonagar als vollkommen ungeeignet erkannt worden ist für die Abschätzung der Bakterien in Milch und daß dasselbe Medium, wenn 2 Proz. Laktose oder Gelatine zugefügt sind, sich besser für die Entwickelung der Milchsäurebakterien eignet. Die folgende Tabelle zeigt den Unterschied:

	Verdünnung	Angewandte Medien	Gesamtzahl der Bakterien in 1 ccm	Säurebildner		Ohne Einfluß auf Milch		Enzyme bildende Bakterien	
				Zahl der Bakterien in 1 ccm	Prozentsatz des Ganzen	Zahl der Bakterien in 1 ccm	Prozentzahl des Ganzen	Zahl in 1 ccm	Prozentzahl des Ganzen
Milch	6,960	Peptonagar	169 040	—	—	—	—	—	—
	6,960	Laktoseagar	494 160	—	—	—	—	—	—
Milch	6,720	Peptonagar	127 680	keine	keine	89 370	70	38 304	30
	6,720	Laktoseagar	329 280	118 540	36	164 640	50	46 000	14
	6,720	Peptongelatine	255 360	17 875	7	153 216	60	85 120	33
Milch	1,583	Peptonagar	136 138	12 252	9	103 463	72	20 420	15
	1,583	Laktoseagar	1 600 413	928 239	58	576 148	36	96 024	6
	1,583	Peptongelatine	1 302 809	547 179	42	547 179	42	208 459	16
Milch	3,565	Peptonagar	563 271	keine	keine	490 045	87	73 225	13
	3,565	Laktoseagar	1 711 200	427 800	25	1 163 600	68	119 784	7
	3,565	Peptongelatine	1 158 625	173 793	15	822 623	71	162 207	14
	30,000	Peptonagar	1 260 000	138 600	11	970 200	77	151 200	12
	30,000	Laktoseagar	26 180 000	8 115 810	31	16 493 000	63	1 570 000	6
	30,000	Peptongelatine	12 320 000	2 587 000	21	8 254 000	67	1 478 000	12
	30,000	Laktosegelatine	19 320 000	8 887 200	46	8 887 200	46	1 540 000	8
Molken von	10,960	Laktoseagar	19 350 000	230 500	43	8 230 500	43	2 709 000	14
Edamer	10,960	Peptongelatine	5 224 000	574 660	11	3 656 000	70	992 500	19
Käse	10,960	Laktosegelatine	13 330 000	2 932 600	22	9 597 600	72	799 800	6
Saure Milch	26,500	Laktoseagar	28 487 500	21 365 625	75	1 709 250	19	5 412 600	6
	26,500	Peptongelatine	18 671 000	1 867 100	10	1 475 600	80	1 807 100	10
	26,500	Laktosegelatine	36 550 000	29 240 000	80	4 386 000	12	2 924 000	8
Milch	3,900	Laktoseagar	9 087 000	4 180 000	46	4 180 000	46	726 960	8
	3,900	Peptongelatine	1 930 500	250 960	13	1 274 130	66	396 400	21
	3,900	Laktosegelatine	9 360 000	5 616 000	60	2 527 000	27	1 216 000	13

In der zweiten Arbeit bedient sich der Autor der folgenden Methode zur Isolierung und Zählung der gaserzeugenden Bakterien: Agar wird in der üblichen Weise zusammengestellt und mit einer normalen Lösung von Natriumhydroxyd behandelt, bis

es gegen Phenolphtalein neutral ist. Nach dem Filtern werden 2 Proz. Laktose hinzugefügt. Die Milch wird verdünnt, indem eine gemessene Menge einem bekannten Quantum Wasser beigefügt wird. Um ein kleines Quantum dieser verdünnten Milch in den geschmolzenen Agar einzumessen, bedient man sich einer steriler Pipette; das Ganze wird in der üblichen Weise in eine Petri-Schale gegossen. Nachdem der Agar erstarrt ist, bringt man eine zweite Tube geschmolzenen Agars auf die erste; diese bedeckt alle in der ersten Tube angesammelten Bakterien. In dem Maße, wie das Wachstum fortschreitet, wird Gas gebildet, welches sich durch Blasenbildung in dem die Kolonie umgebenden Medium kennzeichnet. Da sich alle Kolonieen unter der Oberfläche befinden, kann man die in der Milch vorhandenen Gasbakterien durch die sich an der Oberfläche bildenden Gasbakterien berechnen. Subkulturen der Gasbakterien kann man in üblicher Weise herstellen, mit dem Vorteil, daß man gleich die richtige herausgreifen kann. L. H. Pammel (Jowa).

Holtermann, Carl, Fungus cultures in the tropics. [Preliminary note.] (Annals of the Royal botanic gardens, Peradeniya. Vol. I. Part. 2.)

In seinen „Mykologischen Untersuchungen aus den Tropen" hatte der Verf. mitgeteilt, daß er in Ceylon zufällig neue Nährflüssigkeit für Pilzkulturen aufgefunden habe, die der Brefeldschen an Wert mindestens gleichstehe. Er giebt jetzt an, daß dieser Saft weiter nichts sei als der süße Schleimfluß aus abgeschnittenen Inflorescenzstielen der Zuckerpalmen (Arenga saccharifera und Caryota urens). Die Kulturflüssigkeit wird durch Mischung von Wasser und etwa 10 Proz., bisweilen nur 5—6 Proz., des Schleimsaftes hergestellt, dann filtriert und sterilisiert. Im Arenga-Saft ist gewöhnlich ein Bacillus enthalten, der wiederholt eine Erhitzung auf 100° aushält und immer wieder erscheint. Zu seiner Abtötung ist eine Erhitzung auf 110 Proz. im Autoklaven erforderlich. Manche Pilze verlangen zur Keimung noch den Zusatz von Fleischextrakt (etwa 4 Proz.) oder Mistdekokt zu der so hergestellten Flüssigkeit, andere, die bisher in der Kultur noch nicht zum Keimen gebracht sind, wie die Phalloideen oder Clavarieen, hat der Verf. auch mit seiner Nährlösung nicht zur Keimung veranlassen können. Dagegen hat er die Keimung der Sporen von Hemileia vastatrix beobachtet. Die Hyphen des Pilzes, die nie zu irgend einer Fructifikation zu bringen waren, zeigten auffallenderweise niemals Querwände. Zum Sterilisieren in den Tropen empfiehlt der Verf. hauptsächlich Alkohol und zum Aufbewahren der Nährlösung eine Spritzflasche, deren Blasrohr durch Sublimatwatte verschlossen ist; er warnt vor dem ausgebreiteten Gebrauch flüssiger Nährlösungen, deren Verdunstung die Konzentration verändert, und empfiehlt den Zusatz von wenig Gelatine, die in den Tropen dickflüssig bleibt. Jahn (Berlin).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Miani, D., Ueber die Einwirkung von Kupfer auf das Wachstum lebender Pflanzenzellen. (Berichte der deutsch. botan. Gesellsch. Bd. XIX. 1901. p. 461 ff.)

Der Verf. versuchte festzustellen, ob das Kupfer durch bloße Gegenwart dieselben oligodynamischen Wirkungen auf das Protoplasma lebender Pflanzenzellen hervorzurufen imstande ist, wie bei den Untersuchungen Naegeli's. Die angestellten Versuche ergaben folgende Resultate:

Sowohl das Kupfer wie auch die gekupferten Lösungen hindern im allgemeinen keineswegs die Keimung von Pollenkörnern und Ustilago-Sporen. Nur die mehr als 2 Wochen lang gekupferten Lösungen sind je nach den einzelnen Arten mehr oder weniger nachteilig. Es zeigt sich aber sogar insofern eine günstige Wirkung auf keimfähige Pollenkörner, als diese in leicht gekupfertem Wasser viel besser keimen, als in gewöhnlichem Wasser ohne Nährflüssigkeiten; außerdem entwickelten sich auch die Keimschläuche viel schneller. Eine derartige befördernde Wirkung übt das Kupfer auch durch seine bloße Gegenwart aus; und es ist diese Wirkung eine um so intensivere, je näher das Kupfer sich dem hängenden Kulturtropfen befindet. Heinze (Halle a./S.).

Clark, J. F., On the toxic properties of some copper compounds with special reference to Bordeaux mixture. (Botan. Gaz. Vol. XXXIII. 1902. p. 26.)

Verf. kommt zu folgenden Resultaten: Aus der Bordeauxbrühe entsteht der größte Teil der Kupferverbindung, deren fungicide Eigenschaften sie uns wertvoll machen, erst durch die lösende Wirkung der Pilze selbst. Sie sind imstande, so viel Kupfer zu lösen, daß sie an diesem zu Grunde gehen. Hierzu genügt bereits 1 Teil Kupfer in ca. 80000 Teilen Wasser. — Auch die Wirtspflanze ist imstande, einen größeren oder kleineren Teil des auf ihren Blättern lagernden $Cu(OH)_2$ zu lösen.

Uebersichtliche Tabellen veranschaulichen die Wirkung des Kupfers auf verschiedene Pilze, die Unterschiede in der Giftwirkung verschiedener Kupferpräparate u. a.

Der letzte Teil der Arbeit beschäftigt sich mit dem Chemotropismus der Hyphen von Rhizopus. Verf. konstatiert, daß diese sich hinsichtlich ihrer Wachstumsrichtung von den ausgeschiedenen Stoffwechselprodukten des Pilzes energisch beeinflussen lassen und von ihnen fortwachsen. Küster (Halle a. S.).

Jacky, E., Gezuckerte Bordeauxbrühe und die Bienenzucht. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. Bd. XI. 1901. p. 212—214.)

Es ist wiederholt vor der Verwendung von Kupferzuckerkalk zum Bespritzen der Bäume gewarnt worden, weil eintragende Bienen den Süßstoff aufnähmen und an den giftigen Bestandteilen zu Grunde gingen. Diese Meinung vertrat auch Aderhold

welcher den Zusatz von Zucker zur Bordelaiser Brühe überhaupt für überflüssig erklärte, auf Grund eines ihm zugegangenen Berichtes (ebenda. Jahrg. IV. 1899. p. 4), wonach von mehreren Seiten bei feuchtem Wetter ein Massensterben von Bienen nach dem Befliegen behandelter Bäume beobachtet wurde. Verf. stellte dagegen durch Versuche fest, daß in keinem Falle und bei keiner Witterung ein solches Befliegen stattfand, ebensowenig wie später ein auffälliges Sterben der Bienen eintrat. Direkte Fütterungsversuche mit Brühe von verschiedenem Zuckergehalte hatten ebenfalls nur das Ergebnis, daß die Bienen jene Mischung unberührt ließen, ja davor zurückschreckten. Somit ist gegen die Verwendung gezuckerter Bordeauxbrühe vom Interessenstandpunkte der Bienenzucht aus nichts einzuwenden. Jacobi (Berlin).

Hunziker, Otto, F., Investigations concerning the germicidal action in cow's milk. (Bull. Cornell Univ. Agrl. Exp. Stat. 197. p. 65—91. 3 pl.)

Der Autor bringt eine kurze Uebersicht der Arbeit verschiedener Forscher über die baktericide Wirksamkeit der Kuhmilch. Es sind numerische Bestimmungen getroffen worden; bei den Experimenten wurde Laktoseagar benutzt. Die Forschungen ergaben, daß sich in manchen Milchproben die Bakterien verringern, also daß in der Milch irgend eine Kraft oder Beschaffenheit vorhanden ist, welche einen germiciden Prozeß hervorruft. Die Abnahme des Keimgehalts ist nicht gänzlich abhängig von veränderten äußeren Bedingungen, wie Temperatur und Licht. Bakterien in frischer Milch z. B., welche sich ursprünglich auf 5000 per ccm. bezifferten, verringerten sich auf 2400 in dem Teil, welcher 24 Stunden lang in 42° F gehalten wurde, während sie auf 7000 stiegen bei 50° F, auf 280 000 bei 65° F und auf 12 500 000 000 bei 95° F. Hitze zerstört die germiciden Eigenschaften. Wenn Milch 40 Minuten lang auf 149° F erhitzt wurde, waren die germiciden Eigenschaften zerstört; wenn solche Milch von neuem infiziert wird, gerinnt dieselbe rascher, als frisch gemolkene rohe Milch.

Man hat gefunden, daß die germicide Kraft sehr verschieden ist; es kommt dabei ganz auf das Tier an. Manche Kuhmilch besitzt dieselbe in sehr hohem Maße, in vielen Fällen haben sich die Bakterien auf $^1/_7$ ihrer ursprünglichen Zahl verringert, und in manchen Fällen waren sie gar nicht vorhanden. Das Ergebnis variierte bei verschiedenen Milchentnahmen von ein und derselben Kuh.

L. H. Pammel (Jowa).

Heuser, Zur biologischen Reinigung städtischer Schmutzwässer. (Centralbl. für allgemeine Gesundheitspflege. Jahrg. XX. 1901. Heft 11/12.)

Verf. berichtet über eine Anzahl englischer Gutachten und Diskussionen über obiges Thema, die im vorigen Jahre von seiten maßgebender Behörden und Fachmännerversammlungen vorgebracht sind. Die Einzelheiten dieses Berichts eignen sich nicht zum Referat. Zusammenfassend stellt Verf. den gegenwärtigen

Stand der bakteriologischen Schmutzwässerreinigung, wie folgt, hin: Die bakteriologische Methode der Reinigung ist im großen durchführbar. Feste mineralische und feste organische Stoffe müssen durch Rechen, Siebe und durch Absetzenlassen vorher entfernt werden, damit nur organische Stoffe in feiner Verteilung auf die Bakterienbetten kommen. Um die festen organischen Bestandteile in Lösung zu bringen, ist Anwendung eines Faulraums am zweckmäßigsten. Je nach dem Grad der Verunreinigung sind mehrere Stufen von Bakterienbetten, die nacheinander durchlaufen werden, anzuordnen.

Faulraum und Bakterienbetten brauchen eine längere Zeit bis zu ihrer vollen Wirksamkeit. Das anfängliche Fassungsvermögen der Bakterienbetten nimmt nach und nach ab. Mineralische Bestandteile bewirken eine dauernde Verminderung des Fassungsvermögens, sind daher nach Möglichkeit fernzuhalten oder auf der leichter zu reinigenden Deckschicht der Betten aufzufangen. Organische Bestandteile, die das Fassungsvermögen vermindern, können durch Durchlüftung beseitigt werden. Eine peinlich genaue Regelung und Ueberwachung des Betriebes ist unerläßlich. Die Abwässer der Städte sind so verschieden, daß jede Stadt ihre Sonderversuche vor Einführung des Verfahrens anstellen muß. Die Anlagekosten werden voraussichtlich nicht sehr von denen anderer bisher üblicher Anlagen abweichen, die Betriebskosten werden sich voraussichtlich erheblich niedriger stellen. Bei den Anlagekosten fallen die Kosten des Füllmaterials der Betten am meisten ins Gewicht. Die von Jones angegebenen Anlagekosten von 25,2 M. für das Quadratmeter sind wesentlich höher, als mittleren Umständen entspricht. Die Kosten der in Sutton eingeführten Bakterienbetten mit 2,75 M. pro Quadratmeter sind ungewöhnlich niedrig. Strube (Bremen).

Voss, Uebersicht über die verschiedenen Arten der Reinigung städtischer Abwässer. (Centralbl. für allgemeine Gesundheitspflege. Bd. XX. 1901. Heft 11/12.)

Die Arbeit ist der Auszug aus einem öffentlichen Vortrag, der unter spezieller Berücksichtigung der Verhältnisse von Barmen und Elberfeld über den gegenwärtigen Stand der Frage der Abwässerreinigung orientieren sollte. V. erörtert die mechanischen und chemisch-mechanischen Kläranlagen, deren Durchführbarkeit daran scheitert, daß die „Schlammfrage zur Schlammplage" wird, oder wie das Degener'sche Kohlebreiverfahren mit nachheriger Verbrennung zu kostspielig ist. Die Berieselung ohne Drainage erfordert so große Flächen, daß dies Verfahren für viele Städte ausgeschlossen ist, mit Drainage ist Berieselung eher durchführbar aber kostspielig. Am aussichtsreichsten erscheint dem Verf. das biologische Verfahren, namentlich in der in Manchester erprobten Form mit offenem Faulraum. Strube (Bremen).

Will, H., Vergleichende Untersuchung einiger in den letzten Jahren für den Brauereibetrieb empfoh-

lener Desinfektionsmittel. (Mitteilung der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München. — Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1902. No. 8 u. 9.)

Aehnlich wie dies Paul vor etwa Jahresfrist gethan hat, tritt auch Verf. für eine einheitliche Untersuchungsmethode der Desinfektionsmittel ein, um so wenigstens einigermaßen vergleichbare Werte für die einzelnen Desinficientien zu erhalten; besonders notwendig ist aber ein exaktes Einhalten der gleichartigen Bedingungen bei vergleichenden Untersuchungen, wie sie in der vorliegenden Arbeit mit den verschiedenen für das Brauereigewerbe empfohlenen Desinfektionsmitteln, Antinonnin, Mikrosol, Antigermin, Mycelicid, Afral und Antiformin, in einigen Fällen auch Avenarius Carbolineum, ausgeführt wurden. Als Versuchshefen dienten die bekannten untergärigen Bierhefen Stamm 7 und 93, die Oberhefe (Weißbierhefe) 25, S. ellipsoïdeus II Hansen und S. Pastorianus I Hansen, sowie die wilde Hefe No. 2 (Will). Zur Bestimmung der keimtötenden Kraft wurde folgender Weg eingeschlagen: Die in möglichst absatzfreier Bierwürze abgegorenen, also in den Ruhestand übergegangenen Hefen wurden auf einem sterilen Filter gesammelt und abtropfen lassen. Je 1 und 2 g dieses Hefebreies wurde dann in einem Erlenmeyer'schen Kölbchen mit 50 ccm der 2 und 5 proz. Antisepticumlösungen, welche durch Absetzen oder Filtration von den ungelösten Anteilen befreit waren, übergossen und durch Schütteln verteilt; nach 15 Minuten wurden 10 ccm der trüben Flüssigkeit auf ein steriles Filter gebracht, mit sterilem Wasser sorgfältig ausgewaschen und Filter mit Inhalt in 20 ccm steriler Würze übertragen und diese dann auf Wachstum bezw. Gärerscheinungen beobachtet. Antiformin (2 und 5 Proz.) hatte während der Versuchszeit (15 Minuten) fast alle Hefen abgetötet, Antigermin hatte sowohl in 2 wie in 5 proz. Lösung einige Hefen abgetötet, die übrigen sehr geschwächt; selbst in 1 proz., ja sogar in 0,5 proz. Lösung zeigte das Antigermin noch eine ziemlich starke keimtötende Wirkung, welche selbst diejenige der 2 proz. Mikrosollösung übertraf. Antinonnin wirkt noch etwas schwächer als Mikrosol, während dem Afral und Mycelicid eine abtötende Wirkung überhaupt nicht zukommt.

Zur Bestimmung der entwickelungshemmenden Kraft wurden bestimmte Mengen des Desinficiens mit gehopfter Bierwürze gemischt und die Mischungen (mit Ausnahme der Antiforminlösungen) im Dampftopf $^1/_2$ Stunde lang sterilisiert, dann wurden sie mit einer Platinöse voll der dickbreiigen Hefe versetzt und auf Wachstum bezw. Gärungserscheinungen beobachtet. Als am kräftigsten wirksam erwies sich das Antigermin, welches bei einigen Hefen noch bei 0,06 Proz. jegliche Vermehrung unterdrückte und dieselben sogar bei längerer Einwirkungszeit abtötete; andere Hefenarten erforderten zur Erzielung der gleichen Wirkung etwa 0,125—0,25 Proz. Antigermin; etwas weniger günstig wirkte das Mikrosol, dann folgten Antinonnin und Carbolineum; während bei den vorstehend genannten Mitteln die entwickelungs-

hemmende Dosis durchschnittlich bei 0,25 Proz. liegt, liegt dieselbe bei den anderen Produkten Afral, Antiformin und Mycelicid erst bei 2 Proz. bis 3 Proz.; die entwickelungshemmende Wirkung dieser letzten 3 Produkte ist also ein äußerst geringe.

Einige weitere Versuche wurden noch mit dem Antigermin allein angestellt; dieselben ergaben, daß 0,5 Proz. Antigermin nicht nur jegliches Wachstum von Schimmelpilzen (geprüft wurden Penicillium, Mucor und Oïdium) unterdrückt, sondern dieselben sogar abtötet; in bakterienkrankem Bier konnte, allerdings nicht in allen Fällen, durch 0,5 Proz. Antigermin eine Vermehrung der Keime hintangehalten werden. Würzen mit 0,5 Proz. Antigermin gemischt, bleiben wochenlang intakt, obwohl sie unverschlossen im Laboratorium stehen gelassen wurden. Wesenberg (Elberfeld).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Coupin, H., Les bactéries. (Nature. 1902. p. 26—28.)

— —, Les microbes fossiles. (Rev. scientif. T. XVIII. 1902. No. 17. p. 517—523.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Beck, H., Einwirkung von Mikroorganismen auf einige chemische Normallösungen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 8/9. p. 649—665.)

Czaplewski, Ueber einen bequemen Sektions- und Operationstisch für Laboratoriumsversuchstiere. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 5. p. 393—400.)

Grimme, A., Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung in ihrer Wirkung auf die Membran, den Protoplasten und die Einschlüsse der Bakterienzelle. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 1—5. p. 1—16, 81—90, 161—180, 241—255, 324—327.)

Müller, F. W., Ueber einen Apparat zur Photographie mit auffallendem Lichte von oben und von unten. (Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XIX. 1902. Heft 1. p. 44—56.)

Wesenberg, G., Ueber die Erhöhung des Schmelzpunktes der Gelatine durch Formalinzusatz. (Hygien. Rundschau. 1902. No. 18. p. 899—904.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Cohn, L., Zur Kenntnis der Myxosporidien. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 8/9. p. 628—632.)

Coutts, E. N., Sulphide producing organisms. (Thompson Yates laborat. rep. Vol. IV. 1902. pt. 2. p. 417—429.)

Dieudonné, A., Ueber das Verhalten des Bact. coli zu nativem und denaturiertem Eiweiß. (Hygien. Rundschau. 1902. No. 18. p. 897—899.)

Emmerling, O., Die Zersetzung stickstofffreier organischer Substanzen durch Bakterien. IX, 141 p. m. 7 Lichtdr.-Taf. 8⁰. Braunschweig (Friedr. Vieweg & Sohn) 1902. 4 M.

Galli-Valerio, B. u. **Rochaz, G.**, Neue Beobachtungen über die Larven von Anopheles und Culex im Winter. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 8, 9. p. 601—608.)

Koniński, K., Ein Beitrag zur Biologie der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakteriol. etc I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 8/9. p. 569—573.)

Mac Callum, W. G., Heronimus chelydrae, nov. gen. nov. sp. A new monostome parasite of the American snapping-turtle. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 8/9. p. 632—636.)

Poche, F., Bemerkungen zu der Arbeit des Herrn Basset-Smith: „A systematic description of parasitic copepoda found on fishes, with an enumeration of the known species". (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 685. p. 8—20.)

Scherrer, A., Unsere heutigen Anschauungen über die alkoholische Gärung. (Proskauer Obstbauztg. 1902. No. 9. p. 129—137.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Boyce, R., Note upon fungus deposits in unfiltered water mains. (Thompson Yates laborat. rep. Vol. IV. 1902. pt. 2. p. 409—414.)

v. Esmarch, E., Ueber kleinste Bakterien und das Durchwachsen von Filtern (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 8/9. p. 561—569.)

Kolkwitz, R. u. **Marsson, M.**, Grundsätze für die biologische Beurteilung des Wassers nach seiner Flora und Fauna. (Mitt. a. d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseit. zu Berlin. 1902. Heft 1. p. 33—72.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Weiss, R., Ueber die Bakterienflora der sauren Gärung einiger Nahrungs- und Genußmittel. (Arb. a. d. bakteriol. Inst. d. techn. Hochschule in Karlsruhe. Bd. II. 1902. Heft 3/4.)

Fleisch.

Fleischbeschaugesetz vom 3. VI. 1900 nebst sämtlichen Ausführungsbestimmungen. Textausg. m. Anmerkgn., Ergänzgn., Formular-Mustern u. ausführl. Inhaltsverzeichnis. 80 p. gr. 8°. Trier (A. Sonnenburg) 1902. 0,60 M.

Schumburg, Wurstvergiftung. (Ztschr. f. Hygiene etc. Bd. XLI. 1902. Heft 2. p. 183—184.)

Bier, Brauerei.

Schwackhöfer, W., Ueber eine durch den Bacillus Lindneri hervorgerufene Infektion. (Ztschr. f. d. ges. Brauwesen. 1902. No. 43. p. 631—635.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

König, J., Ueber das Fadenziehendwerden des Brotes. (Landwirtsch. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. 1902. No. 38. p. 471—473.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Emmerling, O., Beitrag zur Kenntnis der Reinigungseffekte in den Filtern beim biologischen Abwässerreinigungsverfahren. (Mitt. d. Kgl. Prüfungsanstalt f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseit. zu Berlin. 1902. Heft 1. p. 73—80.)

— —, Untersuchung über die Bestandteile der Schwimmschicht und ihr Entstehen auf den Abwässern in den Faulbassins biologischer Anlagen. (Mitt. d. Kgl. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseit. zu Berlin. 1902. Heft 1. p. 81—85.)

Kinnicutt, L. P., L'épuration des eaux d'égout. (Rev. d'hygiène et de pol. san. 1902. No. 9. p. 804—817.)

Reitmair, O., Versuche über die Behandlung des Stallmistes mit Kalk. (Ztschr. f. d. landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1902. Heft 10. p. 1107—1140.)

Schubert, A., Bewährte Anstrichsmittel gegen Hausschwamm, feuchte Wände u. s. w. (Milch-Ztg. 1902. No. 43. p. 678.)

Thumm, K., Beitrag zur Kenntnis des sog. biologischen Verfahrens, insbesondere die

bei der Herstellung und dem Betriebe biologischer Abwässerreinigungsanlagen zu beachtenden allgemeinen Grundsätze. (Mitt. d. Kgl. Prüfungsanst. f. Wasserversorg. u. Abwässerbeseit. zu Berlin. 1902. Heft 1. p. 86—117.)

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Briosi, G., Rassegna crittogamica per il primo semestre del 1902. (Bollett. uffic. d. Minist. d'agricolt., ind. e commerc. Vol. III. 1902. fasc. 9. p. 1513—1522.)

Corti, A., Le galle della Valtelline. Secondo contributo alla conoscenza della cecidiologia valtellinese. (Atti d. soc. ital. d. scienze nat. Vol. XLI. 1902. fasc. 2. p. 177—283.)

Del Guercio, G., Osservazioni relative alla malsania della vite e del nocciuolo in provincia di Avellino e di Caserta. (Bollett. uffic. d. Minist. d'agricolt., ind. e commerc. Vol. III. 1902. fasc. 10. p. 1701—1721.)

Finger-and-toe in turnips. Plasmodiophora brassicae. (Journ. of the Board of Agricult. London. Vol. IX. 1902. No. 2. p. 145—149.)

Grazing in orchards sprayed with poisonous washes. (Journ. of the Board of Agricult. London. Vol. IX. 1902. No. 2. p. 193—195.)

Lüstner, G., Weitere Erfahrungen bei der Bekämpfung des Heu- und Sauerwurmes. (Weinbau u. Weinhandel. 1902. No. 38. p. 399.)

Mottareale, G., Passato, presente ed avvenire della patologia vegetale. (Italia ortic. Napoli. 1902. p. 41.)

Percival, J., Silver-leaf disease. (Journ. of the Linn. soc. of London, botan. 1902. p. 390—395.)

Sander, L., Die Wanderheuschrecken und ihre Bekämpfung in unseren afrikanischen Kolonieen. Mit zahlreichen Abbildgn. im Text u. 6 Uebersichtskarten. VII, 544 p. gr. 8°. Berlin (Dietr. Reimer) 1902. 9 M.

Weiss, Die Blutlaus (Schizoneura lanigera). (Prakt. Blätt. f. Pflanzenschutz. 1902. Heft 9. p. 65—67.)

—, Der Maisbrand oder Beulenbrand des Mais (Ustilago Maydis). (Prakt. Blätt. f. Pflanzenschutz. 1902. Heft 9. p. 71—72.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Referate.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.
In Verbindung mit
Prof. Dr. Adametz in Wien, Prof. Dr. J. Behrens in Augustenberg, Prof. Dr. M. W. Beijerinck in Delft, Dr. v. Freudenreich in Bern, Privatdocent Dr. Lindau in Berlin, Prof. Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Prof. Dr. M. C. Potter, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. Wehmer in Hannover, Prof. Dr. Weigmann in Kiel und Prof. Dr. Winogradsky in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.
und
Prof. Dr. Emil Christian Hansen in Kopenhagen.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. Jena, den 24. Dezember 1902. No. 24.

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Weitere Versuche mit stickstoffbindenden Bakterien.

Von Dr. **Gerlach** und Dr. **Vogel**, Posen.

(Schluß.)

Die sämtlichen Kolben wurden bei Zimmertemperatur im Dunklen aufbewahrt. Nach 4 Tagen zeigte sich in den geimpften Kolben (2—8) bereits beginnende Trübung, Kolben 4 mußte nach etwa 14 Tagen ausgeschieden werden, da sich in demselben ein Schimmelpilz entwickelte, welcher höchstwahrscheinlich durch den beim Sterilisieren naß gewordenen Wattepfropfen durchgewachsen war. Nachdem die Kulturen einen Monat alt geworden waren, wurde aus sämtlichen geimpften Kolben je eine Platinöse voll Flüssigkeit entnommen und in Peptonbouillon über-

tragen. In keinem einzigen Falle trat Bakterienwachstum und Trübung der Bouillon ein. Nach abermals einem Monat wiederholten wir diese Prüfung, gleichfalls mit negativem Erfolg. Sämtliche infizierten Bouillonröhrchen blieben klar, dagegen entwickelten sich auf schräg erstarrtem Glukoseagar, welcher mit etwas Nährlösung aus den geimpften Kolben infiziert worden war, schon nach 24-stündigem Bebrüten bei 26° C Bakterien, welche sich bei der mikroskopischen Prüfung als Reinkulturen von Azotobacter chroococcum erwiesen. Nach 5—6 Tagen begann die für jene Bakterien charakteristische Dunkelfärbung des Glukoseagars. Weiter wiederholt vorgenommene Untersuchung und Ueberimpfung auf andere Nährboden ergab mit voller Sicherheit die alleinige Anwesenheit von Azotobacter chroococcum in den Kolben. Nach 9 Wochen wurde ihr Inhalt zunächst mit Fehling'scher Lösung auf das Vorhandensein von Traubenzucker geprüft. Sämtliche Kolben enthielten noch deutlich nachweisbare Mengen desselben. Der ungeimpfte Kolben zeigte, wie zu erwarten war, die stärkste Reaktion. Die Stickstoffbestimmung, welche genau in der früher beschriebenen Weise ausgeführt wurde, ergab:

				Stickstoffgewinn durch die Impfung
in Kolben	1	ungeimpft	0,5 mg Stickstoff	— mg
„	2	geimpft mit Azotobacter chroococcum	43,3 „ „	42,8 „
„	3	„	30,6 „ „	30,1 „
„	5	„	47,1 „ „	46,6 „
„	6	„	40,6 „ „	40,1 „
„	7	„	27,0 „ „	26,5 „
„	8	„	55,4 „ „	54,9 „
			im Mittel	40,2 mg N

Die Versuche zeigen demnach, daß eine bemerkenswerte Stickstoffsammlung stattgefunden hat und zwar durch Kulturen von Azotobacter chroococcum, welche sich bei wiederholter und sorgfältigster Prüfung als vollkommen rein erwiesen haben. Dieses Ergebnis steht in direktem Widerspruch zu demjenigen, welches Beijerinck und van Delden erhalten haben. Es lag daher die Vermutung nahe, daß der von Vogel isolierte und von uns benutzte Bacillus doch vielleicht nicht identisch ist mit dem Azotobacter chroococcum, welchen die genannten beiden Herren beschrieben haben Dies ist jedoch nicht der Fall. Herr Prof. Beijerinck hatte die Liebenswürdigkeit, uns auf Wunsch zwei seiner Mischkulturen zu senden, Azotobacter chroococcum + Granulobacter reptans und Azotobacter + Granulobacter sphaericum. Letztere Kultur kam leider beschädigt hier an, erstere dagegen vollkommen intakt. Die Untersuchung ergab, daß der von Beijerinck isolierte Azotobacter chroococcum dem unserigen in allen Eigenschaften vollkommen gleicht. Eine Reihe anderer Versuche, um das von Beijerinck und van Delden gewonnene Resultat aufzuklären, hat bisher noch keine befriedigenden Resultate ergeben.

Des weiteren kommen, wie bereits erwähnt wurde, Beijerinck und van Delden zu dem Resultate, daß die begleitenden Symbionten (Granulobacter, Aërobacter, Radiobacter) lösliche Stickstoffverbindungen bilden und ausscheiden, welche sodann von den Bakterien der Azotobacter-Gruppe aufgenommen und zur Produktion von Eiweiß benutzt werden. Sie schreiben am Schlusse ihrer Abhandlung:

„Das Hauptresultat der vorliegenden Untersuchung ist nach unserer Meinung der Nachweis, daß, wie schon in der Einleitung hervorgehoben, bei der Assimilation des freien Stickstoffes durch Bakterien zunächst eine lösliche Stickstoffverbindung entsteht, welche sich außerhalb der aktiven Organismen in der Umgebung verbreitet und dort auch für andere Mikroben (oder, wie im Falle von Radicicola für höhere Pflanzen) erreichbar ist[1])“.

Einen direkten Beweis für diese Hypothese bringen Beijerinck und van Delden jedoch nicht. Im Gegenteil, sie weisen ausdrücklich darauf hin, daß es ihnen nicht gelungen sei, die Existenz löslicher Stickstoffverbindungen festzustellen. Soweit es sich aus der erwähnten Abhandlung erkennen läßt, kommen sie durch folgende Schlußfolgerung zu jener Annahme. Nur die begleitenden Symbionten, nicht aber die Bakterien der Azotobacter-Gruppe, legen Stickstoff fest. In einer anfänglich stickstofffreien Nährlösung, welche jene Symbionten enthält, entwickeln sich jedoch auch die Azotobacter-Zellen sehr lebhaft. Es müssen ihnen daher die von den Symbionten gebildeten Stickstoffverbindungen zugänglich sein. Hieraus folgt, daß lösliche Stickstoffverbindungen ausgeschieden werden müssen. Dieser Schluß hat eine Berechtigung, wenn nachgewiesen ist, daß den Bakterien der Azotobacter-Gruppe thatsächlich die Fähigkeit mangelt, den freien Stickstoff zu binden. Sonst ist sie jedoch hinfällig. Wir müssen jedoch auf Grund unserer Versuche dem Azotobacter chroococcum jene Eigenschaft zusprechen. Bei den Untersuchungen unserer Nährstofflösungen ist es uns ebensowenig wie Beijerinck und van Delden gelungen, qualitativ oder quantitativ lösliche Stickstoffverbindungen zu entdecken. Die Nährlösung bleibt stickstofffrei. Der gesamte festgelegte Stickstoff ist in unlöslichen Verbindungen, höchst wahrscheinlich als Bakterieneiweiß in den Kolben enthalten. Nun ist allerdings das Nichtauffinden löslicher Stickstoffverbindungen noch kein vollkommener Beweis dafür, daß sie überhaupt nicht gebildet und ausgeschieden wurden, denn Azotobacter kann derartige Verbindungen vielleicht sofort aufnehmen und zur Eiweißproduktion verwenden, aber immerhin ist die Ausscheidung löslicher Stickstoffverbindungen etwas ganz Neues, besonders in solcher Menge, wie sie nach Beijerinck und van Delden stattfinden müßte. Jedenfalls wäre es notwendig, daß noch weitere Beweise hierfür erbracht würden.

Nach unserer Ansicht bilden sich im Innern der Bakterien (Azotobacter chroococcum) durch direkte Anlagerung von

1) Diese Zeitschrift. Bd. IX. p. 40.

freiem Stickstoff an organische Kohlenstoffverbindungen stickstoffhaltige Stoffe, welche jedoch nicht ausgeschieden, sondern im Innern der Zellen in Eiweiß übergeführt werden. Der Körper dieser kleinen Lebewesen ist sehr stickstoffreich und kann nach unseren Untersuchungen im getrockneten Zustande bis 80 Proz. Eiweiß enthalten. Erst nach dem Absterben der Bakterien und einer teilweisen Umsetzung der Eiweißkörper gelangt der Stickstoff in die umgebende Flüssigkeit. Es bilden sich sodann, wie bei jeder Zersetzung der Proteinstoffe, stickstoffhaltige Verbindungen, welche anderen Lebewesen, so auch höheren Pflanzen, zur Ernährung dienen können.

Die direkte Anlagerung von freiem atmosphärischen Stickstoff an Kohlenstoffverbindungen und die Bildung amidartiger Körper, welche bisher als etwas Ungewöhnliches galt, ist der modernen Chemie gelungen. Wir werden an einer anderen Stelle hierauf zurückkommen. Warum soll ein derartiger Prozeß nicht auch im Innern kleiner Lebewesen stattfinden? Hierbei wird allerdings, wie der chemische Prozeß zeigt, eine bedeutende Energiemenge verbraucht. Diese liefert jedoch der Traubenzucker, welcher bei der Assimilation zersetzt wird. Um 9 mg Stickstoff zu binden, werden fast 1000 mg Traubenzucker in Kohlensäure und Wasser übergeführt. Zum Aufbau des Bakterienkörpers ist nur ein geringer Teil desselben erforderlich.

Außer dem Traubenzucker können, wie die Versuche zeigen, auch noch andere Stoffe den Bakterien die erforderliche Energie, sowie Material zur Zellbildung liefern. Die bereits von Winogradsky und Beijerinck[1]) mitgeteilte Beobachtung, daß bei Gegenwart von propionsauren Salzen (Kalk) lebhafte Stickstoffsammlung stattfindet, bestätigen unsere Versuche. Die Salze scheinen jedoch nicht so günstig, wie Glukose zu wirken. Aehnlich wie die propionsauren Salze, werden aller Wahrscheinlichkeit nach auch die Salze der Milch- und Buttersäure wirken. Nach Beijerinck und van Delden soll auch Mannit den stickstoffsammelnden Bakterien zugänglich sein, während Rohrzucker von ihnen nicht zersetzt wird. Wir finden ersteres bestätigt. Bei unseren Versuchen war Azotobacter chroococcum nicht imstande, Stroh, Rohfaser und grüne Pflanzenteile (Senf) direkt zu verwenden. Es ist jedoch möglich, daß diese Substanzen durch andere Bodenbakterien in Verbindungen übergeführt werden, welche auch den Bakterien der Azotobacter-Gruppe zugänglich sind. In Lösungen, welche gequollene Stärke enthalten, entwickeln sie sich dagegen sehr lebhaft.

Die Thatsache, daß durch Bodenbakterien bedeutende Mengen Stickstoff gebunden und den Kulturpflanzen zugänglich gemacht werden, sowie der Nachweis, daß es möglich ist, diese Bakterien in Reinkultur zu gewinnen und zu vermehren, hat in den Kreisen landwirtschaftlicher Forscher und praktischer Landwirte großes Aufsehen erregt. Ist doch der Stickstoff der teuerste Pflanzennährstoff, und die Möglichkeit, den freien Stickstoff der atmosphärischen Luft vielleicht durch geeignete Maßnahmen mehr als bisher

1) Diese Zeitschr. Bd. VII. p. 570.

den angebauten Pflanzen zugänglich zu machen, gilt zur Zeit als ein verlockendes, heiß zu erstrebendes Ziel. Es giebt bereits jetzt Gelehrte und Landwirte, welche es für möglich halten, daß die gegenwärtig gebräuchliche Anwendung stickstoffhaltiger Düngemittel in Bälde entweder ganz oder doch zum großen Teil unterbleiben kann. Eine Reihe von Vorschlägen sind bereits gemacht worden, und es lohnt sich wohl, auch an dieser Stelle etwas näher auf dieselben einzugehen.

Einer dieser Vorschläge ist, durch Impfung mit stickstoffsammelnden Bakterien die Stickstoffbindung im Boden zu steigern, und so die Entwickelung der Pflanzen zu fördern.

Wir haben eine größere Anzahl von Versuchen hierüber ausgeführt.

60 Vegetationsgefäße wurden mit je 7 kg Erde gefüllt, und zwar:
20 derselben mit einem Boden aus Eduardsfelde,
20 „ „ „ „ „ Marcellino,
20 „ „ „ „ „ Jersitz.

Jedes dieser Gefäße erhielt eine Grunddüngung von
7,5 g Kaliumdiphosphat (2 g Kali + 2 g Phosphorsäure),
2 g Kochsalz,
1 g Magnesiumasulfat,
20 g Calciumkarbonat.

Eine Reihe der Gefäße wurde sodann mit stickstoffbindenden Bakterien geimpft. Wir wählten hierzu eine frische Reinkultur von Azotobacter chroococcum und infizierten hiermit sowohl den Boden, wie auch das Saatgut.

Einigen Kulturgefäßen gaben wir außerdem pro Gefäß 2 g Traubenzucker, um die Thätigkeit der Bakterien anzuregen und zu unterstützen. Eine Reihe anderer Gefäße wiederum erhielt pro Gefäß 1 g Salpeterstickstoff in Form von Natriumnitrat, um festzustellen, ob überhaupt durch eine Vermehrung des Stickstoffgehaltes im Boden eine Ertragssteigerung möglich sei. Bepflanzt wurde der Boden aus Eduardsfelde mit Hafer, Marcellino mit weißem Senf, Jersitz mit Möhren.

Jeder einzelne Versuch wurde 4mal ausgeführt. Die erzielten Ernteresultate sind in nachstehenden Tabellen zusammengefaßt.

Tabellen.

Was folgt aus diesen Versuchen?

Die Düngung mit Salpeterstickstoff hat die Erträge in allen Fällen bedeutend gesteigert.

Es wurden geerntet:

	g von je 4 gleichbehandelten Vegetationsgefäßen					
	Hafer		weißer Senf		Möhren	
	Trocken-substanz	Stick-stoff	Trocken-substanz	Stick-stoff	Trocken-substanz	Stick-stoff
ohne Stickstoffdüngung (ungeimpft)	168,83	1,557	77,45	1,499	125,89	0,915
1 g Salpeterstickstoff (ungeimpft)	290,80	3,426	158,29	5,033	325,15	3,202

Tabelle I. Hafer: Boden aus Eduardsfelde.

No.	Grunddüngung und pro Gefäß	Ertrag von je 4 gleichbehandelten Gefäßen g		Wassergehalt Proz.		Stickstoffgehalt Proz.		Geerntet wurden Trockensubstanz g			demnach Stickstoff g		
		Körner	Stroh	Körner	Stroh	Körner	Stroh	Körner	Stroh	Zusam.	Körner	Stroh	Zusam.
1	ungeimpft	84,0	108,0	11,44	12,56	1,43	0,33	74,39	94,44	168,83	1,201	0,356	1,557
2	1 g Salpeterstickstoff (ungeimpft)	166,0	163,5	11,00	12,50	1,66	0,41	147,74	143,06	290,80	2,756	0,670	3,426
3	geimpft mit Azotobacter chroococcum	93,0	106,0	11,40	12,24	1,33	0,33	82,40	93,03	175,43	1,237	0,350	1,587
4	2 g Traubenzucker (ungeimpft)	90,5	110,5	11,50	11,86	1,32	0,33	80,09	97,39	177,48	1,195	0,365	1,560
5	2 g Traubenzucker, geimpft mit Azotobacter chroococcum	82,0	103,0	11,38	11,74	1,35	0,35	72,67	90,91	163,58	1,107	0,361	1,468

Tabelle II. Weißer Senf: Boden aus Marcellino.

No.	Grunddüngung und pro Gefäß	Ertrag von je 4 gleichbehandelten Gefäßen g		Wassergehalt Proz.		Stickstoffgehalt Proz.		Geerntet wurden Trockensubstanz g			demnach Stickstoff g		
		I. Ernte	II. Ernte	I. Ernte	II. Ernte	I. Ernte	II. Ernte	I. Ernte	II. Ernte	Zusam.	I. Ernte	II. Ernte	Zusam.
1	ungeimpft	340,5	134,0	82,50	86,67	0,33	0,28	59,59	17,86	77,45	1,124	0,375	1,499
2	1 g Salpeterstickstoff (ungeimpft)	828,0	363,0	86,06	88,19	0 45	0,36	115,42	42,87	158,29	3,726	1,307	5,033
3	geimpft mit Azotobacter chroococcum	485,5	142,5	82,57	85,59	0,31	0,34	84,62	20,53	105,15	1,505	0,485	1,990
4	2 g Traubenzucker (ungeimpft)	364,0	112,0	81,93	84,24	0,30	0,36	65,77	17,65	83,42	1,092	0,403	1,495
5	2 g Traubenzucker, geimpft mit Azotobacter chroococcum	305,0	115,0	81,50	83,90	0,30	0,32	56,43	18,52	74,95	0,915	0,368	1,283

Tabelle III. Möhren: Boden aus Jersitz.

No.	Grunddüngung und pro Gefäß	Ertrag von je 4 gleichbehandelten Gefäßen g		Wassergehalt Proz.		Stickstoff Proz.		Geerntet wurden Trockensubstanz g			demnach Stickstoff g		
		Wurzeln	Kraut	Wurzeln	Kraut	Wurzeln	Kraut	Wurzeln	Kraut	Zusam.	Wurzeln	Kraut	Zusam.
1	ungeimpft	712,0	76,0	84,79	76,85	0,09	0,36	108,30	17,59	125,89	0,641	0,274	0,915
2	1 g Salpeterstickstoff (ungeimpft)	1678,0	275,0	84,81	74,45	0,14	0,31	254,89	70,26	325,15	2,349	0,853	3,202
3	geimpft mit Azotobacter chroococcum	593,0	74,5	85,28	76,68	0,07	0,37	87,29	17,37	104,66	0,415	0,276	0,691
4	2 g Traubenzucker (ungeimpft)	619,0	75,5	85,51	74,40	0,07	0,38	89,69	19,33	109,02	0,433	0,287	0,720
5	2 g Traubenzucker, geimpft mit Azotobacter chroococcum	644,0	84,5	83,82	75,70	0,07	0,43	104,20	20,53	124,73	0,451	0,363	0,814

Die drei Böden waren demnach nicht imstande, den Pflanzen genügende Mengen stickstoffhaltiger Nährstoffe zu liefern.

Bei den Versuchen mit Boden aus Eduardsfelde und Hafer ist durch die Impfung mit Azotobacter chroococcum der Ertrag an Trockensubstanz und Stickstoff so gut wie gar nicht beeinflußt worden.

Die Ernte ergab:

g von je 4 gleichbehandelten Vegetationsgefäßen

	Trockensubstanz	Stickstoff
ungeimpft	168,83 = 100	1,557 = 100
geimpft	175,43 = 104	1,587 = 102

In der Reihe, welche die mit Boden aus Marcellino gefüllten und mit weißem Senf bepflanzten Gefäße enthielt, brachte die Ernte von den geimpften Gefäßen einen höheren Ertrag, als diejenige von den ungeimpften Gefäßen.

Wir ernteten:

g von je 4 gleichbehandelten Vegetationsgefäßen

I. Ernte

	Trockensubstanz	Stickstoff
ungeimpft	59,59 = 100	1,124 = 100
geimpft	84,62 = 142	1,505 = 135

II. Ernte (Nachfrucht)

	Trockensubstanz	Stickstoff
ungeimpft	17,86 = 100	0,375 = 100
geimpft	20,53 = 115	0,485 = 127

In der Versuchsreihe mit Boden aus Jersitz und Möhren brachten die geimpften Gefäße einen etwas niedrigeren Ertrag als die ungeimpften.

Es wurden geerntet:

g von je 4 gleichbehandelten Vegetationsgefäßen

	Trockensubstanz	Stickstoff
ungeimpft	125,89 = 100	0,915 = 100
geimpft	104,66 = 83	0,691 = 78

Die Gesamternte (Hafer, Senf und Möhren zusammen) betrug:

g von je 12 gleichbehandelten Vegetationsgefäßen

	Trockensubstanz	Stickstoff
ungeimpft	372,17 = 100	3,971 = 100
geimpft	385,24 = 104	4,268 = 107
1 g Salpeterstickstoff pro Gefäß	774,24 = 208	11,661 = 293

Die Impfung der drei Bodenarten mit Azotobacter chroococcum hat demnach keinen nennenswerten Einfluß auf die Entwickelung der Pflanzen und den Ertrag ausgeübt. Nur beim weißen Senf trat eine Steigerung ein. Wir glauben jedoch, daß dieselbe mehr einem Zufall als der Impfung zuzuschreiben ist, denn es ist merkwürdig, daß die Impfung gerade bei den kurzlebigen Pflanzen und besonders bei der ersten Ernte einen Erfolg gehabt hat, während sie bei den Pflanzen mit längerer Vegetationsdauer (Hafer und Möhren) entweder gar keinen oder sogar einen ungünstigen Einfluß zeigt. Uns überrascht das Gesamtresultat eigentlich nicht. Wir haben bereits an einer anderen Stelle [1]) darauf aufmerksam gemacht, daß stickstoffbindende Bakterien im Boden sehr verbreitet sind. Alle bisher von uns

1) Diese Zeitschrift. Bd. VIII. p 673.

untersuchten Böden enthielten sie. Eine Impfung muß daher schon von vornherein wenig Aussicht auf Erfolg versprechen. Und selbst wenn die Anzahl jener Bakterien infolge ungünstiger Verhältnisse stark zurückgegangen sein sollte, so besitzen doch andererseits die Bakterien eine so bedeutende Vermehrungsfähigkeit, daß sie, sofern günstige Lebensbedingungen eintreten, den Boden sofort aufs neue bevölkern werden. Fehlen aber die letzteren, so nützt auch die Impfung nichts. Ein Versuch, welchen wir im großen auf dem Versuchsgut Pentkowo ausführten, ergab im wesentlichen das gleiche Resultat, wie die angeführten Versuche in den Kulturgefäßen. Wir verschafften uns zunächst große Mengen stickstoffbindender Bakterien, indem wir in großen Petri'schen Schalen erstarrten Glukoseagar mit einer frischen Kultur von Azotobacter chroococcum impften, die entwickelten üppigen Kulturen sodann in Wasser aufschwemmten und alsdann mittels der Mayfarth'schen Hederichspritze auf 3 Versuchsparzellen an einem nebeligen Tage aussprengten. Nach dem Ausspritzen wurde die infizierte Bodenoberfläche sofort durch Eggen umgearbeitet. Diese drei Parzellen sowie eine Reihe ungeimpfter Versuchsstücke desselben Schlages hatten außerdem für die Entwickelung der Pflanzen genügende Mengen Kali und Phosphorsäure erhalten. Auf sämtlichen Parzellen wurden Zuckerrüben gedrillt. Dieselben entwickelten sich von Anfang bis zu Ende auf den geimpften Parzellen ebenso kümmerlich wie auf den ungeimpften, während sie auf denjenigen Versuchsstücken, welche eine Salpeterdüngung erhalten hatten, ein üppiges Wachstum zeigten.

Wir ernteten

geimpft	Parzelle 1	2214	kg	Rüben
	„ 2	2259	„	„
	„ 3	1950	„	„
ungeimpft	Parzelle 4	2386	kg	Rüben
	„ 5	2825	„	„
	„ 6	2633	„	„

Also auch bei diesen Versuchen hat das Impfen mit Bakterien, welche im Laboratorium eine starke Stickstoffbindung ausübten, keinen günstigen Erfolg erzielt, sondern eher ungünstig gewirkt.

Ein Blick auf die p. 886 abgedruckten 3 Tabellen zeigt, daß wir außer den besprochenen Versuchen noch eine Reihe anderer ausgeführt haben, bei welchen dem Boden 2 g Traubenzucker pro Gefäß zugemischt war. Es war dies geschehen, um von vornherein eine üppige Entwickelung der stickstoffsammelnden Bakterien zu erzielen. Zum Vergleich wurde auch eine Anzahl ungeimpfter Gefäße mit Traubenzucker versetzt.

Die Ernte ergab folgende Resultate.

Hafer, Boden Eduardsfelde.

g von je 4 gleichbehandelten Vegetationsgefäßen.

	Trockensubstanz	Stickstoff
ungeimpft	168,83 = 100	1,557 = 100
ungeimpft, 2 g Traubenzucker	177,48 = 105	1,560 = 100
geimpft, 2 g Traubenzucker	163,58 = 97	1,468 = 94

Weißer Senf, Boden Marcellino.

	Trockensubstanz	Stickstoff
ungeimpft	77,45 = 100	1,499 = 100
ungeimpft, 2 g Traubenzucker	83,42 = 108	1,495 = 100
geimpft, 2 g Traubenzucker	74,95 = 97	1,283 = 86

Möhren, Boden Jersitz.

	Trockensubstanz	Stickstoff
ungeimpft	125,89 = 100	0,915 = 100
ungeimpft, 2 g Traubenzucker	109,02 = 87	0,720 = 88
geimpft, 2 g Traubenzucker	124,73 = 99	0,814 = 91

Die Gesamternte (Hafer, Senf und Möhren zusammen) brachte

	g von je 12 Vegetationsgefäßen	
	Trockensubstanz	Stickstoff
ungeimpft	372,17 = 100	3,971 = 100
ungeimpft, 2 g Traubenzucker	369,92 = 99	3,775 = 95
geimpft, 2 g Traubenzucker	363,26 = 98	3,565 = 90

Ferner

	g von 12 Vegetationsgefäßen	
	Trockensubstanz	Stickstoff
geimpft	385,24 = 100	4,268 = 100
geimpft, 2 g Traubenzucker	363,26 = 94	3,565 = 84

Die Zugabe von Traubenzucker hat daher eher ungünstig als vorteilhaft gewirkt. Auch dieses Resultat überrascht uns nicht, denn eine Reihe früherer Versuche hatte bereits darauf hingewiesen, daß durch Zugabe größerer Mengen kohlenstoffhaltiger Nährstoffe zum Boden die Erträge wesentlich herabgedrückt werden können; eine Erfahrung, welche auch andere Forscher, wie Krüger und Schneidewind[1]) gemacht haben. Wir ernteten z. B. bei Versuchen in Vegetationsgefäßen.

Hafer[2]).

	Ertrag von je 3 gleichbehandelten Vegetationsgefäßen	
	Trockensubstanz	Stickstoff
ohne Zusatz	48,81 g	0,468 g
mit 50 g Traubenzucker*)	20,61 „	0,273 „
mit 50 g Glycerin	26,43 „	0,279 „
mit 40 g milchsaurem Natrium	28,02 „	0,279 „

*) Zusatz zu je 3 Gefäßen.

Ferner

Hafer[2])

	Ertrag von je 3 gleichbehandelten Vegetationsgefäßen
ohne Zusatz	165,11 g
mit 30 g Stroh	105,29 „

---

1) Siehe z. B. Landw. Jahrb. 1899. p. 217.
2) Jahresber. d. landw. Versuchsstation Posen, 1899/1901. p. 14, 1900/01. p. 23.

Die Zugabe von Traubenzucker, Glycerin, Stroh, milchsaurem Natrium und ähnlicher Substanzen hat die Erträge wesentlich herabgesetzt. So günstig diese Körper auf die Stickstoffbindung wirken, wenn man sie Reinkulturen von Azotobacter chroococcum zusetzt, so gefährlich ist es, dieselben im Boden anzuwenden, da, wie die Versuche zeigen, die Erträge hierdurch vermindert werden können. Dies geschieht übrigens nicht allein bei Versuchen in Vegetationsgefäßen, sondern auch bei solchen auf freiem Felde, wie unsere diesjährigen Versuche in Pentkowo zeigen. Woher dies kommt, können wir mit vollster Sicherheit noch nicht angeben, vermuten jedoch, daß die erwähnten Substanzen auch denjenigen Bodenbakterien als Nährstoffe dienen, welche lösliche stickstoffhaltige Verbindungen (Salpeter) im Boden entweder unter Bildung von freiem Stickstoff zersetzen oder in eiweißartige Substanzen überführen und so den Pflanzen entziehen. Ihre Thätigkeit wird durch Zufuhr obiger Nährstoffe gleichfalls gesteigert, und so kann es geschehen, daß der Schaden größer ist als der Nutzen.

Einen bedeutenden Einfluß scheint bei der Stickstoffbindung auch die Virulenz der betreffenden Bakterien auszuüben. Wir haben bereits im ersten Teile dieser Arbeit darauf hingewiesen, daß der von uns isolierte Azotobacter chroococcum allmählich, bei längerem Aufbewahren und öfterem Ueberimpfen auf andere Nährböden in seinem Vermögen, freien Stickstoff festzulegen, geschwächt wird. Bei Gegenwart von 12 g Traubenzucker assimilierte eine frischgewonnene Reinkultur von Azotobacter chroococcum innerhalb 5 Wochen 127,9 mg Stickstoff, eine ältere Reinkultur desselben innerhalb 9 Wochen dagegen nur 54,9 mg Stickstoff.

Aus den Versuchen von Beijerinck und van Delden ergeben sich, wie bereits erwähnt wurde, ähnliche Resultate. Auch diese Forscher weisen auf die abnehmende Virulenz ihrer stickstoffsammelnden Bakterien hin. Sie schreiben:

„Das Vermögen, den freien Stickstoff festzulegen, geht bei allen Arten der Gattung Granulobacter leicht verloren durch fortgesetzte Kultur an der Luft, wie sie z. B. von selbst bei der Reinkultur auf festem Substrate vorkommt“ [1]).

Es liegt demnach der Gedanke nahe, möglichst virulente Bakterien zu züchten und dem Boden zuzuführen, wie dies z. B. Hiltner hinsichtlich der Knöllchenbakterien erstrebt. Wir möchten zunächst nochmals darauf hinweisen, daß die von uns zu den Bodenimpfungen benutzten Bakterien frische Kulturen waren, welche im Laboratorium lebhafte Stickstoffbindung ausübten. Und trotzdem keine Erfolge. Unsere Versuche zeigen ferner, daß die dem Boden frisch entnommenen Bakterien der Azotobacter-Gruppe eine recht hohe Virulenz besitzen. Es ist uns bisher nicht gelungen, dieselbe noch weiter zu steigern, im Gegenteil, die Virulenz nahm, wie bereits erwähnt ist, regelmäßig ab. Es ist daher fraglich, ob es überhaupt gelingen wird, besonders virulente stick-

1) Diese Zeitschrift. Bd. IX. p. 5.

stoffbindende Bakterien zu züchten. Mit Hilfe der gewöhnlichen Nährlösungen wird dies wohl kaum möglich sein.

Von großer Bedeutung scheint für die Entfaltung der vollen Thätigkeit von Azotobacter der ungehinderte Zutritt von Sauerstoff aus der atmosphärischen Luft zu sein. In der ersten Arbeit über diesen Gegenstand haben wir bereits gezeigt, daß die Festlegung des Stickstoffes um so größer ist, je flacher die Nährlösung ausgebreitet war, oder je stärker sie durch Einleiten von Luft mit Stickstoff und Sauerstoff in Berührung gebracht wurde. Dies ist erklärlich, denn die Stickstoffbindung ist von einer lebhaften Zersetzung, von Kohlenstoffverbindungen begleitet, als deren Endprodukte die hoch oxydierten Stoffe Kohlensäure und Wasser entstehen. Auch im Boden scheint mit der Durchlüftung die Stickstoffaufnahme zuzunehmen. Unsere Untersuchungen ergaben, daß der umgegrabene Boden nach einiger Zeit in der obersten Schicht enorme Mengen von Bakterien der Azotobacter-Gruppe enthält. Wurde etwas Erde von einem Versuchsfelde der Vegetationsstation, welches einige Wochen vorher frisch umgegraben war, mit glukosehaltiger stickstofffreier Nährlösung übergossen, so bildete sich bereits nach wenigen Tagen auf der Flüssigkeit eine Haut, welche zum größten Teil aus Bakterien der Azotobacter-Gruppe bestand. Mit der reichlichen Vermehrung wird wohl aber auch eine lebhafte Stickstoffbindung vereint sein. Bereits Krüger und Schneidewind[1] haben darauf hingewiesen, daß ein Boden, welcher über Winter locker im Schuppen lagerte, im Frühjahr eine starke Stickstoffwirkung ausübte. Auch wir machten diese uns seiner Zeit recht unangenehme Erfahrung, als wir vor einigen Jahren eine Bodenprobe locker und flach ausgebreitet im Schuppen der Vegetationsstation aufbewahrten. Diese Erde lieferte den Pflanzen im Frühjahr so große Mengen Stickstoff, daß eine Salpeterdüngung fast gar keine Ertragssteigerung mehr bewirkte. Sie stammte von einer Versuchsparzelle, welche seit Jahren keine Stickstoffdüngung erhalten hatte und infolgedessen nur recht kümmerliche Ernten lieferte. Interessant ist ferner der folgende, bereits früher von uns beschriebene Versuch[2].

Von einem Felde, welches in den letzten 5 Jahren weder Stalldünger noch andere stickstoffhaltige Düngemittel erhalten hatte, wurde;

1) Ackerkrume bis auf 5 cm entnommen und in Vegetationsgefäße gefüllt;

2) Ackerkrume aus 5—25 cm Tiefe ausgestochen und gleichfalls in Vegetationsgefäße gebracht;

3) Ackerkrume von 1—25 cm in Vegetationsgefäße gefüllt. Jedes dieser letzten Gefäße erhielt außerdem 1,5 g Stickstoff in Form von Ammoniumnitrat.

Für genügende Mengen von Kali und Phosphorsäure war durch eine entsprechende Düngung in sämtlichen Gefäßen gesorgt. Wir ernteten von je 4 gleichbehandelten Vegetationsgefäßen:

---

1) Schneidewind, Blätter für Zuckerrübenbau. 1901. p. 25.
2) Jahresbericht der landw. Versuchsstation Posen. 1901/2. p. 9.

	Hafer Körner	Hafer Stroh
Gefäß mit Ackerkrume bis zu 5 cm Tiefe	55,0 g	84,0 g
" " " " " 5—25 " "	25,5 "	42,5 "
" " " " " 1—25 " " + 1,5 g Stickstoff	138,0 "	170,0 "

Der Hafer hatte sich demnach in der obersten Schicht bedeutend besser entwickelt, als in dem etwas tiefer gelegenen Boden. Aller Wahrscheinlichkeit nach ist dies auf einen höheren Gehalt der obersten Bodenschicht an wirksamen Stickstoffverbindungen zurückzuführen, denn Reihe 3 zeigt, daß sich durch eine Stickstoffdüngung die Erträge der Gefäße, welche mit Boden von 1—25 cm Tiefe gefüllt waren, bedeutend steigern ließen. Phosphorsäure und Kali waren außerdem im Ueberfluß vorhanden, und bearbeitet wurde jenes Feld seit Jahren bis auf 40 cm Tiefe. Woher aber kommt die größere Menge wirksamer Stickstoffverbindungen in der obersten Schicht? Sie kann entstanden sein entweder durch eine lebhafte Umsetzung der noch von früher her im Boden vorhandenen unlöslichen, stickstoffhaltigen Substanzen oder durch eine energische Stickstoffaufnahme in jener Schicht, während ihres Lagerns auf dem Felde. Wir neigen zu der letzteren Annahme, denn der ursprüngliche Stickstoffgehalt des Bodens muß durch den 5-jährigen Raubbau so stark herabgedrückt sein, daß sich kaum noch durch Zersetzung der aus früheren Jahren stammenden organischen Bestandteile größere Mengen wirksamer Stickstoffverbindungen bilden konnten. Immerhin bedarf diese Angelegenheit noch einer weiteren Aufklärung.

In den Kreisen der praktischen Landwirte ist der günstige Einfluß einer zeitweisen Bodenlockerung sehr wohl bekannt. Sie wirkt in verschiedener Richtung vorteilhaft auf die Entwickelung der Pflanzen, und die neueren Erfahrungen machen es sehr wahrscheinlich, daß sie auch die Thätigkeit der stickstoffbindenden Bakterien wesentlich beeinflußt. Es ist jedoch hier nicht der Ort, näher auf diese Punkte einzugehen, so sehr auch der Gegenstand hierzu reizen könnte.

Ein weiterer Beitrag zur Frage der Arteinheit der Knöllchenbakterien der Leguminosen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Halle a. S., Direktor Prof. Dr. Fränkel.]

Von Dr. **H. Buhlert.**

In No. 5—8 des laufenden Jahrganges dies. Centralbl. veröffentlichte ich „Untersuchungen über die Arteinheit der Knöllchenbakterien der Leguminosen und über die landwirtschaftliche Bedeutung dieser Frage“. Die in dem betreffenden Artikel beschriebenen Experimente waren im Jahre 1901 zur Ausführung gelangt; einige weitere ähnliche Versuche wurden nun noch während

des letzten Sommers angestellt, über deren Verlauf und Resultate im Folgenden kurz berichtet sein möge:

Bezüglich des Arbeitsplanes ist zu bemerken, daß als zu prüfende Bakterien solche aus den Knöllchen von Vicia sativa und Vicia Faba gewählt wurden; als zu prüfende Pflanzen Pisum sativum, Vicia Faba, Vicia sativa, Lupinus luteus. Die Vicia Faba-Bakterien waren jedoch keine reinen Bohnen-, sondern vielmehr „Kreuzungs"-Bakterien, sie waren nämlich aus einer Bohne[1]) gezüchtet, deren Knöllchen durch Erbsenbakterien hervorgerufen waren. Dieser letztere Stamm wurde namentlich deswegen herangezogen, um seine knöllchenbildende Kraft den Lupinen gegenüber zu erproben. Da sich nach den Feststellungen von Nobbe und Hiltner die genannte Leguminose besonders widerstandsfähig gegen eine Infektion mit fremden Bakterien erweist, war wohl anzunehmen, daß eine Impfung mit Bakterien von Vicia sativa, also der Vertreterin einer anderen Gruppe im natürlichen System, ohne Erfolg bleiben würde, während es hingegen nicht ausgeschlossen erschien, daß die Kreuzungsbakterien, deren Anpassung an eine bestimmte Art gewissermaßen schon durchbrochen war, das erreichten, was die voll angepaßten Vicia-Bakterien nicht zu leisten vermochten.

Aehnliche Unterschiede wie bei den Lupinen konnte man ferner bei den Erbsen, Bohnen und Wicken hinsichtlich der Wirkungsweise der beiden Stämme erwarten, so zwar, daß bei den Erbsen und Bohnen die Kreuzungsbakterien, bei den Wicken die Vicia-Bakterien eine größere Wirksamkeit entfalteten.

Was die Methodik und die Vorbereitungen im einzelnen anlangt, so waren sie genau dieselben wie bei den ersten Versuchen, sodaß auf die genannte Veröffentlichung verwiesen werden kann.

Ueber die Zeit des Legens der Samen, ferner über die Art und Weise der Impfung mag die folgende Tabelle Aufschluß geben; der Einfachheit halber seien in derselben auch zugleich die Resultate hinsichtlich der Knöllchenbildung und hinsichtlich der bakteriologischen Untersuchung aufgeführt. (Siehe Tabelle S. 894.)

Wie aus der Tabelle zu ersehen, sind 1 Lupinen- und 2 Wickensamen überhaupt nicht aufgegangen; bei Wicke No. 10 war wohl nach einigen Tagen der Graskeim durchgebrochen, die Pflanze kümmerte aber von Anfang an, so daß auch sie sehr bald entfernt werden mußte. Wicke No. 12 und ferner alle Erbsen zeigten ein etwas geiles Wachstum, bei den Bohnen war dies fast gar nicht der Fall und bei den Lupinen endlich war der Verlauf der Vegetation ein völlig normaler.

Weil die Erbsen sehr bald den Wattebausch der Kulturflaschen erreichten, mußten die betreffenden Gefäße schon 14 Tage nach der Impfung geöffnet werden. Die Wurzeln erwiesen sich jedoch überall als gut ausgebildet und waren auch vollkommen gesund.

Die Wurzeln der Bohnen hingegen, die 8 Tage später, also 3 Wochen nach der Impfung, untersucht wurden, zeigten an einigen

1) Bohne No. 14 des vorjährigen Versuches.

No.	Namen der Pflanze	Bezeichnung der Bakterien	Die Aussaat erfolgte	3 cm³ Bakterienaufschwemmung	Knöllchen?	Fremdinfektion?	Bemerkungen
1	Pis. sat.	Vicia sativa	9./6.	19./6.	Knöllchen	keine Fremdinf.	
2	„ „	Kreuz.-Bakt.	„	21./6.	„	„	
3	„ „	Vicia sativa	„	19./6.	„	Fremdinfektion	
4	„ „	Kreuz.-Bakt.	„	21./6.	„	keine Fremdinf.	
5	Vicia Fab.	Vicia sativa	„	19./6.	„	„	
6	„ „	Kreuz.-Bakt.	„	21./6.	„	„	
7	„ „	Vicia sativa	„	19./6.	„	„	
8	„ „	Kreuz.-Bakt.	„	21./6.	„	Fremdinfektion	
9	Vicia sat.		„	nicht aufgegangen			
10	„ „	„	„	21./6.			eingegangen
11	„ „		„	nicht aufgegangen			
12	„ „	„	„	21./6.	Knöllchen	keine Fremdinf.	
13	Lup. lut.		„	nicht aufgegangen			
14	„ „	„	„	21./6.	—	Fremdinfektion	
15	„ „	Vicia sativa	„	19./6.	—	„	
16	„ „	Kreuz.-Bakt.	„	21./6.	—	„	

Stellen Verfärbung, wenn auch bei weitem nicht in dem Maße wie bei dem vorigen Versuch, bei welchem ja allerdings die Vegetationszeit ungefähr um das Doppelte ausgedehnt war.

Am längsten konnten die Experimente mit den Lupinen und der Wicke fortgesetzt werden, sie wurden erst 4 Wochen nach der Impfung abgebrochen. Eine Schädigung war weder bei den Wurzeln der Wicke noch bei denen der Lupine zu bemerken.

Die bakteriologische Prüfung der Gefäße ergab, daß No. 3, 8, 14, 15 und 16 verunreinigt waren. Da alle mit Lupinen beschickten Flaschen fremde Keime enthielten, liegt die Vermutung nahe, daß in diesen Fällen die Samensterilisation nicht genügt habe; leider war, da die Zeit drängte, eine vorherige genauere Prüfung der Methode auf ihre Zuverlässigkeit speziell bei den Lupinen nicht möglich gewesen. Die Verunreinigung der übrigen Gefäße kann wohl ebensogut auf andere Ursachen als auf mangelhafte Sterilisation der Samen zurückgeführt werden.

Gemäß den Grundsätzen, die in der vorigen Abhandlung aufgestellt wurden, sind nun die Versuche No. 3 und 8 von vornherein auszuschalten, während No. 14, 15 und 16 zum Vergleich herangezogen werden können, da hier keine Knöllchenbildung erfolgt ist.

Betrachten wir unter der obigen Einschränkung die Resultate, und zwar zunächst hinsichtlich der Vicia-Bakterien, so sehen wir, daß diese sich innerhalb der eigenen Gruppe überall wirkungsvoll gezeigt, bei der Lupine dagegen versagt haben.

Auch die Kreuzungsbakterien sind hier nicht erfolgreicher gewesen; in keinem der beiden Fälle konnte trotz genauester Untersuchung weder ein Knöllchen noch die Anlage eines solchen entdeckt werden.

Bezüglich der Erbsen und Bohnen und, wenn überhaupt vergleichbar, auch der Wicken ist ebenfalls kein Unterschied zwischen

den beiden Stämmen hervorgetreten, da Knöllchen überall gebildet sind, und eine feinere Scheidung auf Grund der Größe und Anzahl wohl kaum durchzuführen ist.

Die letzteren Ergebnisse sprechen zweifellos ebenso wie die korrespondierenden der vorigen Arbeit für die Arteinheit der Leguminosenbakterien; während die Lupinenversuche wieder erkennen lassen, daß die einzelnen Stämme der Species, aus deren Knöllchen sie gewonnen sind, bezw. den nahe verwandten am meisten angepaßt sind.

Nachdruck verboten.

Kurze Bemerkung über Benennung und Verbreitung der Urophlyctis bohemica Bubák.

Von Prof. Dr. **P. Magnus.**

G. Passerini hat im Jahre 1877 in Rabenhorst Fungi europaei No. 2419 Synchytrium Trifolii Passer. herb. ausgegeben und beschrieben. Er sagt dort auf der Etiquette: „Sporae globosae membrana exteriore luteo-fusca laevi interiore alba; Gallae hemisphaericae epiphyllae. Ad folia Trifolii pratensis L. Parmae: Giardino publico, Majo 1877."

Als ich mein Exemplar vor einiger Zeit untersuchte, fand ich, daß Passerini's Synchytrium Trifolii eine Urophlyctis ist. Ich vermutete damals gleich, daß sie die von F. Bubák im Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. II. Abt. Bd. VIII. 1902. p. 817—821 beschriebene und abgebildete Urophlyctis bohemica Bub. auf Trifolium montanum sei. Da ich aber kein Exemplar dieser Art hatte, wartete ich, bis ich ein solches vergleichen könnte. Jetzt konnte ich nun in No. 701 der von der botanischen Abteilung des k. k. naturhistorischen Hofmuseums in Wien herausgegebenen Kryptogamae exsiccatae das von Fr. Bubák daselbst ausgegebene Exemplar genau vergleichen und muß es demnach für Synchytrium Trifolii Pass. erklären.

Auch in Schlesien scheint diese Art aufzutreten, und zwar auf Trifolium repens. J. Schroeter führt in seinem Werke: „Die Pilze Schlesiens. Erste Hälfte. p. 181 die Passerini'sche Art auf Trifolium repens an. Er stellt sie zu Olpidium und nennt sie daher Olpidium Trifolii (Pass.) Schroet. Seine Beschreibung enthält viel Uebereinstimmendes, doch giebt er auch Entwickelungsmomente an, wodurch diese Art von den anderen Urophlyctis-Arten abweichen würde. Schroeter'sche Exemplare dieser Art habe ich leider nicht gesehen. Schroeter sagt l. c.: „Schwärmsporangien einzeln oder zu mehreren (bis 20) reihenweise in einer Nährzelle gebildet, diese ausdehnend und meist ganz ausfüllend und auch die Nachbarzellen zur Vergröße-

rung anregend, wodurch schwielen- oder warzenförmige Wucherungen entstehen, kugelig oder elliptisch mit einem kurzen Schlauche heraustretend. Dauersporangien kugelig, elliptisch oder spindelförmig, einzeln oder zu mehreren, meist die ganze Nährzelle ausfüllend, mit dicker, glatter, brauner Membran und gleichmäßig mit farblosem Inhalt erfüllt. In Epidermiszellen an Blättern, Blatt- und Blütenstielen von Trifolium repens, an den Blättern blasenförmige Auftreibung, an den Stielen Schwielen und Verkrümmungen hervorrufend. Mai — Oktober. Breslau, Namslau, Waldenburg, Reussendorf."

Nach der Beschreibung der Pilzgalle und des Auftretens derselben, nach der Angabe, daß mehrere Dauersporangien mit dicker, glatter, brauner Membran meist die ganze Nährzelle ausfüllen, kann ich kaum zweifeln, daß Schroeter diese Urophlyctis vor sich gehabt hat. Doch verträgt sich damit nicht die Beschreibung der Schwärmsporangien, die den echten Charakter eines Olpidium - Schwärmsporangiums mit den heraustretenden Schläuchen zeigen, während bei Urophlyctis pulposa das Schwärmsporangium der Nährzelle außen aufsitzt und Rhizoiden ins Innere derselben hineinsendet. Entweder hat daher Schroeter fälschlich die Dauersporen der Urophlyctis mit den Olpidium-Sporangien kombiniert, oder Schroeter's Art ist trotz der Uebereinstimmung des Auftretens zahlreicher braunrandiger Dauersporen in einer vergrößerten Wirtszelle und trotz der bis ins kleinste übereinstimmenden Gallbildung nicht die von Passerini l. c. ausgegebene und beschriebene Art. Letztere ist jedenfalls mit der von Bubák auf Trifolium montanum in Böhmen gefundenen Urophlyctis identisch, und die Auffindung dieser von Passerini auf Trifolium pratense gesammelten Art in Böhmen auf Trifolium montanum durch Bubák legt die Wahrscheinlichkeit noch weit näher, daß auch die schlesische Chytridiacee auf Trifolium repens zu dieser Art gehört. Solche Gallenwucherungen bildende Olpidien sind übrigens sonst an höheren Pflanzen gar nicht bekannt. Nur die in Saprolegnien beobachteten Olpidien lassen deren von ihnen befallenen Schläuche abnorm anschwellen.

Hingegen gehört das von P. Sydow in Sydow Mycotheca Marchica No. 3281 ausgegebene Olpidium Trifolii (Pass.) auf Trifolium repens von Lichterfelde bei Berlin nicht hierhin. Ich konnte an meinem Exemplar überhaupt keinen Pilz in den drei Trifolium-Blättern finden. Hingegen möchte es eine tierische Galle sein. Die Hälften von Fiederblättchen sind an den drei Kleeblättern hülsenförmig gegeneinander gefaltet und das Gewebe zur Seite der den Kiel der Faltung bildenden Mittelrippe etwas aufgetrieben und gerötet. Es möchte daher vielleicht die Galle einer Cecidomyine sein, wie solche an Trifolium montanum bekannt ist.

Das Synchytrium Trifolii Pass. gleich Urophlyctis bohemica Bubák möchte daher als Urophlyctis Trifolii (Pass.) P. Magnus zu bezeichnen sein. Diese Art ist in Europa

verbreitet. Sie ist in Böhmen auf Trifolium montanum, in Ober-Italien auf Trifolium pratense L. und wahrscheinlich in Schlesien auf Trifolium repens beobachtet worden. Sie bildet mit Urophlyctis pulposa (Wallr.) Schroet., U. major Schroet., U. Kriegeriana P. Magn. und einer von Bubák auf Ambrosia Bassi L. aus Sardinien angegebenen Urophlyctis die auf oberirdischen Organen der Wirtspflanzen auftretenden Urophlyctis-Arten, während die anderen bekannten Arten in unterirdischen Organen der Wirtspflanzen wachsen.

Von diesen Arten habe ich leider die in Schlesien auf drei Rumex-Arten beobachtete Urophlyctis major Schroet. noch nicht untersuchen können. Sie wird sicher noch an vielen anderen Standorten, namentlich in östlichen Ländern, z. B. Böhmen, anzutreffen sein. Ich wäre für freundliche Uebersendung von Untersuchungsmaterial dieser Art sehr dankbar.

Referate.

Rolly, Weiterer Beitrag zur Alkali- und Säureproduktion der Bakterien. (Archiv f. Hygiene. Bd. XLI. p. 406.)

Frühere Versuche hatten zu dem Resultate geführt, daß die Fäulnisbakterien in reinen stark alkalischen Peptonlösungen saure Zerfallsprodukte bilden, wodurch die Alkalescenz der Lösung abnimmt und so die Vermehrung der Bakterien begünstigt wird.

Es handelte sich nun darum, ob, wie in den früheren Versuchen die Gemische von Fäulnisbakterien, so auch Reinkulturen durch Produktion von NH_3 aus den Peptonlösungen zur Bildung von Säure Anlaß geben, die durch Oxydation des NH_3 zu salpetriger Säure und schließlich zu Salpetersäure infolge des hohen Alkaligehaltes entsteht.

Neben einer langen Reihe verschiedener Mikroorganismen kamen auch 3 besonders isolierte Fäulnisbakterien zur Untersuchung. Nach 8 Tagen zeigten nun die mit den Reinkulturen geimpften sauren Peptonlösungen Alkaliproduktion und die alkalischen Peptonlösungen auch eine Zunahme der alkalischen Titers, sofern die Bakterien in den betreffenden Lösungen überhaupt wuchsen. Es vermochte also keine der einzeln verimpften Bakterienarten in stark alkalischer Peptonlösung saure Zerfallsprodukte zu bilden und so die Alkalinität herabzudrücken.

Versuche durch gleichzeitiges Impfen verschiedener Bacillen in stark alkalische Peptonlösung, eine Abnahme der Alkalescenz zu erhalten, hatten nur dann einen positiven Erfolg, wenn mit dem

Proteus vulgaris alle 3 Fäulnisbakterien oder doch zwei derselben eingeimpft wurden.

Es ist also ein synergetisches, vielleicht auch symbiotisches Zusammenleben verschiedener Fäulnisbakterien notwendig, um in einer stark alkalischen Peptonlösung die Alkalescenz herabzusetzen. Was einer einzelnen Fäulnisbakterienart nicht gelingt, bringt ein Gemisch von mehreren zu stande. Spirig (St. Gallen).

Klöcker, Alb., Die Gärungsorganismen in der Theorie und Praxis der Alkoholgärungsgewerbe, mit besonderer Berücksichtigung der Einrichtungen und Arbeiten gärungsphysiologischer und gärungstechnischer Laboratorien. Ein Lehrbuch für Studierende und Praktiker. 318 pp. mit 147 in den Text gedruckten Abbildungen. Stuttgart (Max Waag) 1900.

Der von dem Herrn Verfasser mir kürzlich ausgesprochenen Bitte, sein Werk in dieser Zeitschrift anzuzeigen, komme ich, obwohl nun bereits 2 volle Jahre seit dem Erscheinen des Buches verflossen sind und dasselbe, wie ich glaube, schon in Aller Händen ist, trotzdem gerne nach. Und um so mehr, als ich mich den von verschiedenen Fachgenossen bereits ausgesprochenen durchweg anerkennenden Worten über das Buch, nachdem ich nun genügend Zeit hatte, dasselbe gründlich kennen zu lernen, vollkommen anschließen kann.

Der Verf. hat mit seinem Buche etwas durchaus Gediegenes und Brauchbares geliefert. Der Inhalt ist reichhaltig, dabei doch knapp, präcis und übersichtlich. Da ist nichts Unnötiges oder nur Halbverdautes gesagt; es ist nichts „zusammengeschrieben“, sondern das Buch bezeugt Seite für Seite die vollste Sachkenntnis und richtiges Abwägen des Stoffes.

Nach einer kurzen Einleitung in die geschichtliche Entwickelung der Lehre von den Gärungsorganismen behandelt der Verf. im 2. Kapitel eingehend die Einrichtung der Apparate und die Arbeitsmethoden, wie solche in einem modernen gärungsphysiologischen und gärungstechnischen Laboratorium im Gebrauche und üblich sind, wobei ihm diejenigen des Karlsberg-Laboratoriums als Grundlage dienen. Gerade dieses Kapitel dürfte sich als besonders nützlich erweisen, da Verf. auf Grund eigener Erfahrungen als langjähriger Assistent E. Chr. Hansen's nur wirklich Brauchbares mitteilt und der gerade hier vorliegenden Gefahr entgangen ist, auch auf mehr oder weniger überflüssige Dinge einzugehen. Sympathische Worte sind es, wenn Verf. bei Gelegenheit der Beschreibung der Einrichtung eines physiologischen Laboratoriums sagt: „Ein gärungsphysiologisches Laboratorium soll eigentlich das Aussehen haben, als ob daselbst gar nichts unternommen würde, selbst wenn gerade im Augenblicke mit der größten Anstrengung gearbeitet wird.“

In einem 3. Kapitel werden die wichtigsten für die Gärungsgewerbe in Betracht kommenden Mikroorganismen behandelt. Auch

hier ist alles Ueberflüssige vermieden, der Stoff wohldurchdacht und ausgewählt, die Darstellung präcis und streng sachlich.

Wenn in diesem Kapitel in erster Linie zwar die für das Brauereigewerbe in Betracht kommenden wichtigsten Mikroorganismen beschrieben werden, so fehlen doch auch keineswegs die für andere Gärungsgewerbe, speziell für die Weinbereitung wichtigen. Und ich muß anerkennen, daß auch auf diesem, ihm doch ferner liegenden Gebiete der Verf. sich mit voller Sachkenntnis bewegt.

Eine eingehende und gut ausgewählte Litteraturübersicht macht den Schluß.

Ich kann dem Buche keine bessere Empfehlung geben, wenn ich sage, daß dasselbe eine Leistung ist, wie man sie aus dem Karlsberg-Laboratorium nicht anders erwarten konnte.

Wortmann (Geisenheim).

Klöcker, A., Gymnoascus flavus n. sp. (Hedwigia. 1902. p. 80. Mit Taf. II.)

Auf der Fliege Lucilia caesar fand Verf. den genannten Pilz bei Kopenhagen. Das Pilzgewebe ist zuerst weiß, dann gelb. Die Asken sind zahlreich, von lockerem Mycel umgeben, oval, seltener kugelförmig, mit schnell verschwindender Wand. Sporen 8, oval, mit sehr feinen Warzen, wassergrau oder gelblich. Conidien kugelig oder oval, kettenförmig, an Seitenzweigen gebildet.

Die Askosporen und Conidien keimen auf Würze und Würzegelatine leicht, schwieriger in 10-proz. Saccharoselösung, die überhaupt ein schlechtes Nährsubstrat darstellt. Die Konidienbildung unterscheidet die neue Art von allen bisher beobachteten Gymnoascus-Arten.

Lindau (Berlin).

Hétier, F., Note sur quelques champignons vivant aux dépens du cuir. (Bull. de la Soc. Mycol. de France. 1902. p. 125.)

Verf. hat näher studiert, wie Lederabfälle von Schuhfabriken sich zersetzen. Bei trockener Lagerung fallen sie ausschießlich den Insektenlarven zur Beute, bei Anwesenheit von Feuchtigkeit dagegen werden sie von Pilzen zerstört. In erster Linie erscheinen Penicillium glaucum und griseum, sowie Graphium macropodium. Dann erscheinen von höheren Pilzen kleine Coprinus-Arten, die wieder von größeren Hutpilzen abgelöst werden. Beobachtet wurden Coniophora puteana, Bolbitius sp., Psathyrella disseminata, Stropharia merdaria, Pleurotus chioneus und ein resupinater Polyporus. Von Ascomyceten erschienen Aleuria cerea, sowie eine Tricharia. Verf. meint, daß die Lederabfälle sich als Kultursubstrat gut eignen würden und empfiehlt ihre Anwendung im Laboratorium.

Lindau (Berlin).

Ruhland, W., Einige Pilzfunde aus der Umgegend von Berlin. (Verhandl. des Bot. Ver. der Prov. Brandenb. Jg. XLIII. 1901. Berlin 1902. p. 105—106.)

Pleospora Henningsiana Ruhl., Jahn et Paul n. sp., an abgestorbenen Zweigen von Corylus Avellana, bei Berlin.

Ascochyta Moellendorfii Ruhl. n. sp., an Stengeln und Blättern von Coriospermum hyssopifolium, an der Kolonie Halensee bei Berlin.

Massospora cicadina Peck, eine bisher nur aus Nordamerika bekannte Entomophthoracee, wurde für Deutschland als neu an einer kleinen Cicade im Bredower Forst (Finkenkrug) gefunden.

Ludwig (Greiz).

Magnus, P., Ueber die auf Compositen auftretenden Puccinien vom Typus der Puccinia Hieracii nebst einigen Andeutungen über den Zusammenhang ihrer spezifischen Entwickelung mit ihrer vertikalen Verbreitung. (Ber. der Deutsch. Botan. Gesellsch. p. 453 u. Taf.)

Die Arbeit behandelt Morphologie und Verbreitung der früher als Sammelart Puccinia flosculosorum zusammengefaßten, auf Compositen schmarotzenden Puccinien. Diese Gruppe besteht aus vielen Arten, die sich in die einzelnen Sektionen folgendermaßen verteilen:

Auteupuccinia: P. Lampsanae, P. variabilis, P. Crepidis, P. Prenanthis und P. Cirsii lanceolati;

Brachypuccinia: P. Hieracii, P. Taraxaci, P. Centaureae, P. Cyani, P. Cirsii;

Pucciniopsis: P. Tragopogonis;

Micropuccinia: P. Arnicae scorpioidis.

Merkwürdig ist nun die Verbreitung. Die Formen mit kompliziertem Generationswechsel (Auteupuccinia) kommen fast nur in der Ebene vor, dagegen steigen die, bei denen nur einfacher oder kein Generationswechsel vorhanden ist, viel höher in die Alpen hinauf. Die Erklärung beruht darauf, daß die kurze Vegetationsperiode der höheren Alpen einen mehr Zeit erfordernden Generationswechsel für die Pflanze nicht gestattet.

Lindau (Berlin).

Patouillard, N., Champignons Algéro-Tuisiens nouveaux ou peu connus. (Bull. de la Soc. Mycol. de France. 1902. p. 47.)

Verf. beschreibt neue Pilze aus Nordafrika, von denen hier nur die Parasiten angeführt werden sollen:

Gymnosporangium gracile auf Juniperus oxycedrus besitzt wahrscheinlich seine Aecidien auf Crataegus oxyacantha. Cintractia algeriensis zerstört die Infloreszenzen von Danthonia Forskalii. Phragmonaevia lauri auf lebenden

Blättern von Laurus nobilis. Sphaerella hertiae auf Blättern von Hertia cheirifolia. Endlich wird eine neue Gattung der Tubercularieen beschrieben, Helostroma, mit einer Art, H. album, auf den Blättern von Eichenarten. Das Mycel bildet kugelige stromatische Massen, die in den Atemhöhlen der Spaltöffnungen sitzen und ein Bündnl eng aneinander liegender Pilzhyphen aus der Spaltöffnung hervorwachsen lassen. Die Fäden sind nicht alle gleich lang und tragen kurz unter der Spitze eine kleine Anschwellung, an der die Conidien zu 6—7 sitzen. Dieselben sind ellipsoidisch, farblos, gerade. Lindau (Berlin).

Marchal, Emile, Recherches biologiques sur une Chytridinée parasite du lin. (Bull. de l'Agriculture. 1901.)

In Flandern ist eine durch Asterocystis radicis, eine Chytridiacee, verursachte Krankheit des Flachses weit verbreitet. Die Wurzeln werden zur Zeit ihres stärksten Längenwachstums an der wachstumsfähigen Zone infiziert, später verfärben sich die oberirdischen Teile, die Triebspitzen werden welk.

Die Untersuchungen des Verf. machen mit dem Entwickelungsgange des Parasiten bekannt, mit einer Reihe von Pflanzen (Leguminosen, Cruciferen u. a.), die von demselben Organismus infiziert werden, und mit der Einwirkung äußerer Faktoren auf seine Entwickelung. Für die praktische Bekämpfung der Krankheit ergaben sich keine Resultate daraus. Die infizierten Pflanzen müssen samt den Wurzeln möglichst früh ausgerissen und verbrannt werden. Küster (Halle a. S.).

Cecconi, G., Quinto contributo alla conoscenza delle galle della foresta di Vallombrosa. (Malpighia. Vol. XV. 1902. p. 261.)

Beschreibung 27 neuer Gallen des Vallombrosawaldes. Neu ist die Galle durch Aphis sp. auf Beta vulgaris var. Rapa (Fältelung der Blätter). Neu für Italien sind: Pemphigus Gnaphalii auf Gnaphalium uliginosum, Harmandia cavernosa auf Populus tremula, Contarinia aequalis auf Senecio nemorensis, Cecidomyia tiliumvolvens, Eriophyes tetrarichus, Oligotrophus Hartigi auf Cilia platyphyllos. Neue Substrate sind: Perrisia acercrispans auf Acer opulifolium, Agromyxa Schineri und Nematus gallicola auf Salix incana, Eriophyes destructor auf Sedum rubens. Pantanelli (Italia).

Malmejac, F., Nouveau destructeur des céréales. (La Meunerie Française. Année. XVIII. 1902. No. 197. p. 6—8. 19 Fig.)

Im algerischen Departement Constantine haben neuerdings geflügelte Wanzen großen Schaden am reifenden Getreide angerichtet, sodaß die Aehren infolge der Stiche sich schwärzten und die Körner taub wurden. Nach Angabe der Kabylen ist die Plage dort zum ersten Male aufgetreten und hat sich von Süden her aus-

ausgebreitet. Von der Regierung mit Untersuchungen über Natur und Bekämpfung des Insekts beauftragt, liefert der Verf., ein Militäroberapotheker, eingehende Beschreibungen und zahlreiche Figuren des Schnabelkerfs und seiner Stände. Da es unter den 13 von Lucas in seiner Histoire nouvelle (einziger litterarischer Quelle des Verf.'s!) aufgeführten Hemipteren nicht wiederzukennen ist, hält M. es für neu und tauft es daher Pentatoma triticum (sic). — Aus Text und Bildern läßt sich mit Sicherheit ersehen, daß es sich um eine längst bekannte Species der Pentatomidengattung Aelia, wahrscheinlich Ae. Germari Küst., handelt. Der deutsche Vertreter dieses Genus ist der gemeine Spitzling (Ae. acuminata), welcher nicht selten dem Roggen schädlich wird. Das mitgeteilte Vorkommnis zeigt wiederum, daß es nötig ist, die Ueberwachung des Pflanzenschutzes nicht Dilettanten, sondern wissenschaftlich und praktisch gebildeten Biologen zu überweisen, da ähnliche Irrtümer auch in Deutschland vorkommen und Schaden stiften. Jacobi (Berlin).

Froggatt, W. W., Two new wheat-pests. (Als „Miscellaneous Public. No. 454 of the Dept. of Agricult. of N. S. Wales" abgedr. aus der „Agricultural Gazette of N. S. Wales". March 1901. Mit 2 Taf.)

Eine in Neu-Süd-Wales weit verbreitete und namentlich auf Obstbäumen schädlich auftretende kleine Wanze, Nysius vinitor Bergr., verursacht durch ihren Stich das Taubwerden vieler Weizenähren. In den Weizenfeldern ist ihr nicht gut beizukommen, Verf. betont also die Notwendigkeit, sie in den Obstgärten aufzusuchen und sie dort möglichst zu dezimieren, was auf zweierlei Arten geschehen kann. Entweder werden die Wanzen von den Bäumen frühmorgens abgeklopft und in einer Kerosenmischung aufgefangen, oder aber über den befallenen Baum ein Zelt gespannt und dieses gründlich ausgeräuchert. — Ein zweiter Feind befällt die Halme dicht über dem Boden. Es ist eine Aphidenart, welche Verf. nicht selber hat auffinden können, die durch ihren Stich eine Knickung des wachsenden Halmes hervorruft, so daß er später bei dem leichtesten Winde umknickt und sich nicht mehr aufrichten kann. Diesem Feinde gegenüber soll die Larve einer dort häufigen Fliege, Psilopus sydneyensis Mcq., zu den Dolichopodiden gehörig, sehr wirksam thätig sein. P. Speiser (Bischofsburg).

Stift, A., Ueber die im Jahre 1901 beobachteten Krankheiten der Zuckerrübe. (Oesterr.-ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtsch. 1901. p. 906.)

Die hervorgehobenen Schädiger und Krankheiten der Zuckerrübe betreffen in der Hauptsache Oesterreich-Ungarn.

1. Tierische Feinde der Zuckerrübe.

Rüsselkäfer. Der punktbauchige Hohlrüssler (Cleonus punctiventris) erschien mit gewohnter Pünktlichkeit Ende April in Westungarn; in Mähren konnte der gemeine Hohlrüssler (Cl.

sulcirostris) häufiger konstatiert werden, während er in Ungarn nur selten zu finden ist. In einer Gegend Westungarns trat der Haarmaul-Bogenfurchenrüssler (Tanymecus palliatus) auf Rübenfeldern auf, und zwar in einer Gegend, wo er noch niemals beobachtet worden ist. Das Auftreten war jedoch nur ein beschränktes und es wäre der Schaden kein großer geworden, wenn nicht außerdem noch der Cl. punctiventris in Massen aufgetreten wäre.

Der Schildkäfer (Cassida nebulosa). Der Schädling trat in verheerender Weise im Monat Juni in Rumänien auf und wurden in einem Falle auf einem 30 ha großen Felde 5 ha derart abgefressen, daß nur die Blattrippen übrig blieben. Auch im Marchfelde (Niederösterreich) wurde steltenweise über den bedeutenden Schaden geklagt, und zwar namentlich dort, wo die Rübenfelder durch Gänsefuß- und Meldenarten stark verunkrautet waren. Die radikale Entfernung dieser Unkräuter ist daher dringend geboten. Weitere Schäden wurden in Galizien beobachtet.

Der neue Rübenschädling, Eurycreon sticticalis L. Die Raupen dieses Kleinschmetterlings haben von allen Schädlingen im Berichtsjahre wohl die allergrößten Schäden verursacht, welche umsomehr ins Gewicht fallen, als das Verbreitungsgebiet dieses Schmetterlings ein ungeheueres war und nicht nur weite Länderstriche Südrußlands umfaßte, sondern sich auch über Rumänien, die Bukowina und Galizien erstreckte. Verf. erörtert die Lebensgeschichte des Schmetterlings nach den Mitteilungen von Zielinski und Ostaszewski, sowie dessen Beschädigungen in Rußland, Rumänien und in der Bukowina, in welch beiden letzten Ländern Verf. das Auftreten zuerst im Juli konstatierte. Hier traten in Gemeinschaft mit E. sticticalis auch die Raupen des Spinners Spilosoma lupricipeda (Hermelinmotte), sowie weiter in Rumänien die Raupen des Rübensaatweißlings (Pieris napi) auf. In der Folge verschwanden bei den immer massiger auftretenden Raupen des Eurycreon sticticalis die anderen Raupen immer mehr und mehr. Das Vordringen der ersteren Raupen war ein geradezu unaufhaltbares. Sie überkletterten Gebäude, und bedeckten handhoch die Eisenbahnschienen, so daß Züge stecken blieben. Die befallenen Rübenfelder wurden vollständig kahl abgefressen, so daß die Wurzel nur klein blieb. In Rußland gab die Verarbeitung derartiger Rüben auch zu unliebsamen Betriebsstörungen Anlaß. In der Bukowina zeigten sich die Raupen zuerst auf Luzerne, Klee, Gemenge, Gras und Mais und gingen dann erst auf die Rübe über. Manchmal war aber die Reihenfolge der Nahrung eine umgekehrte, indem die Rübenfelder zuerst befallen wurden. Ganz merkwürdig ist ferner die Thatsache, daß manche Rübenfelder von den Raupen vollständig verschont blieben, während nicht weit davon andere Feldfrüchte angegriffen wurden. In Rußland wurden Tausende Hektar Rüben abgefressen und befürchtete man gegen Ende August das Erscheinen der zweiten Generation, doch ist diese Befürchtung nicht eingetroffen, und scheinen die russischen Entomologen Recht gehabt zu haben, welche behaupteten,

daß sich unter den Schmetterlingen der ersten Generation zumeist nur Männchen befunden haben.

Die Bekämpfung des Schmetterlings muß sich bei seinem massenhaften Auftreten sowohl gegen den Schmetterling als auch gegen die Raupen und die Puppe richten, nachdem nur auf diese Weise ein Kampf aussichtsvoll erscheint. Verf. erörtert nun unter Beigabe der nach der Natur gezeichneten und in Farben ausgeführten Abbildungen des Schmetterlings, der Raupen und des Cocons die unterschiedlichen in Anwendung gebrachten Bekämpfungsmittel, wobei er noch hervorhebt, daß die von Landwirten behauptete Uebertragung des Schädlings durch den Rübensamen, wie auch die praktische Erfahrung gelehrt hat, ein Unsinn ist.

Die Wintersaateule (Agrotis segetum) hat stellenweise einen bedeutenden Schaden angerichtet, und in Nordmähren trat sie in derartigen Mengen auf, daß sogar das Sammeln der Raupen durch Hilfskräfte vollständig ohne Wirkung blieb. Fruchtfolge, Düngung und Bodenqualität blieb in Bezug auf die Größe des Auftretens ohne Einfluß.

Die Rübenblattwespe (Athalia spinarum) hat nur geringe Beschädigungen verursacht. Bemerkenswert ist nur ihr starkes Auftreten in Böhmen an Hederich. Aehnliche Beobachtungen hat Weiss in verschiedenen Gegenden Bayerns gemacht. Stellenweise wurde auch über ihr Auftreten auf Kohl geklagt.

Die Rübennematode (Heterodera Schachtii-Schmidt.) Wenngleich auch vielfache Klagen über das Auftreten dieses Schädlings laut wurden, so hat jedoch im allgemeinen das Auftreten desselben das Maß des Unerträglichen nicht überschritten.

Die Gartenhaarmücke (Bibio hortulans), die Milbenspinne (Tetranychus tellarius), und der gemeine Tausendfuß (Julus terrestris) wurden nur vereinzelt beobachtet. Vereinzelte Einsendungen betrafen ferner Drahtwürmer und Aaskäferlarven, was darin seine Ursache haben dürfte, daß diese Schädlinge alljährlich auftreten und auch kleineren Rübenbauern schon so ziemlich bekannt sind, und daher fachwissenschaftlicher Rat nur noch selten erbeten wird.

2. Krankheiten der Zuckerrübe.

Der Wurzelbrand ist wie alle Jahre in mehr oder minder heftigem Grade aufgetreten. Von zahlreichen untersuchten Proben konnte nur in einem einzigen Falle das Auftreten des Moosknopfkäfers (Atomaria linearis) als Ursache der Krankheit angesprochen werden. In einigen anderen Fällen trug unzweifelhaft die zur Zeit der ersten Entwickelung der Rüben herrschende abnormale Trockenheit dazu bei, daß die Pflänzchen eintrockneten und in ihrem Habitus einen wurzelbrandähnlichen Charakter zeigten. Die nächsten Regen brachten die Erholung und das weitere Gedeihen. Wieder in einigen Fällen waren pflanzliche Parasiten, in erster Linie Phoma Betae Fr., als Ursache der Krankheit anzusprechen, aber alle diese Fälle traten weitaus gegen jene zurück, bei welchen die Ursache der Krankheit weder in dem Auftreten

von pflanzlichen und tierischen Parasiten, noch in der länger andauernden abnormalen Trockenheit, sondern einzig und allein im Boden lag. Hierbei hat sich nun gezeigt, daß gerade diejenigen Parzellen, welche eine kräftige Phosphorsäuredüngung und eine ausgiebige Kalkung erhalten hatten, die wenigsten kranken Pflänzchen trugen, während z. B. nach Stallmist- und Kompostdüngung die Krankheit eine ziemliche Verbreitung angenommen hatte. In einem Falle scheint auch der Scheideschlamm vorbeugend gewirkt zu haben. Es dürften daher reichliche Superphosphatdüngungen neben fortgesetzter Kalkdüngung ein brauchbares Mittel zur Verhinderung der Krankheit sein, wozu allerdings auch eine richtige Bodenbereitung und die Verwendung gut ausgekörnten Rübensamens kommen muß.

Der strikte Beweis, daß der Wurzelbrand auch vom Boden seinen Ausgang nehmen kann, wurde sowohl durch die Untersuchung eines Rübensamens — der keinerlei Wurzelbrand erzeugende Parasiten enthielt, trotzdem die mit diesem Samen besäten Felder außerordentlich gelitten hatten — als auch durch spezielle Feldversuche erbracht, bei welch letzteren Rübensamen verwendet wurde, der eine ungewöhnlich große Zahl kranker Keime — von Phoma Betae befallen — aufwies. Bei diesen Versuchen gingen die Pflanzen ganz normal auf und es zeigte sich in der Folge nicht eine kranke Pflanze. Dieser Versuch lehrt, daß man auch aus „krankem“ Rübensamen unter Umständen gesunde Rüben erzielen kann. Wenn es nun auch als wünschenswert erscheint, den Rübensamen vor der Aussaat einer Desinfektion zu unterziehen, so darf man aber von dieser Operation nicht das absolute Heilmittel erwarten. Sind die Infektionskeime im Boden und entwickeln sich unter Umständen die Pflänzchen nur in kümmerlicher Weise, dann nützt auch die Desinfektion des Samens nichts. Man muß also in Bezug auf diese Operation vorsichtig in seinem Urteil sein, um nicht im Uebereifer der Sache ein höchst beachtenswertes Verfahren zu mißkreditieren.

Der Rübenschorf hat, nach Einsendungen aus verschiedenen Gegenden Oesterreich-Ungarns und Frankreichs zu schließen, einen zumeist gutartigen Charakter gezeigt. Trotz der größeren Entwickelung der Krankheit war der Zuckergehalt ein ganz normaler. Nur eine 850 g schwere Zuckerrübe aus Frankreich zeigte einen Zuckergehalt von nur 11,8 Proz., während eine 224 g schwere Rübe desselben Feldes 15,3 Proz. Zucker aufwies. In diesem Falle scheint die Ausbreitung der Krankheit durch den bündigen Boden wesentlich begünstigt worden zu sein. Ueber den sogenannten „Gürtelschorf“ konnte Verf. nichts in Erfahrung bringen und fand nur einmal zufälligerweise auf einem Felde unter ganz gesunden Rüben eine einzige, diese Krankheitsform zeigende Rübe, welche aber immerhin einen Zuckergehalt von 15,9 Proz. aufwies.

Die Rübenschwanzfäule oder die Bakteriose der Rübe wurde nur hier und da unter Mietenrüben beobachtet. Von Interesse ist es, daß sich die Krankheit in Mähren, in der Gegend,

wo sie Verf. vor einigen Jahren zuerst auffand, immer wieder zeigt, was beweist, daß die Ursache im Boden liegt, d. h. die Krankheit durch die hier befindlichen Bakterien immer wieder erregt wird.

Der Wurzeltöter oder die Rotfäule (Rhizoctonia violacea Tul.). Die Krankheit hat sich, wie in den letzten Jahren auch von anderen Forschern beobachtet wurde, im großen und ganzen gutartig gezeigt, insofern nämlich, als selbst bei ziemlicher Ausbreitung derselben der Zuckergehalt kein geringer war. Immerhin bleibt aber die Krankheit eine bedenkliche, nachdem sich die kranken Rüben in den Mieten sicherlich nicht halten, sondern schnell in Fäulnis übergehen werden.

Auftreten von nicht grünen Schmarotzerpflanzen (Seide) auf Zuckerrüben. Eine ganz eigentümliche Erscheinung zeigten Zuckerrüben, welche Ende Juni zur Einsenkung gelangten. Die meisten Wurzeln waren im großen und ganzen normal entwickelt, nur einige waren bleistiftdünn geblieben. Die auffallendste Erscheinung zeigten die Blätter. An den Blattstielen traten zahlreiche Fäden auf, die teilweise die Blattstiele überspannten, zum Teil aber auch die Blätter mehr oder weniger einhüllten. Bei den bleistiftdünnen Rüben war der ganze Blattapparat vollständig von den Fäden umwuchert, die ganze Ballen bildeten und die Blätter zum Absterben brachten. Die mangelhafte Entwickelung des Rübenkörpers war dadurch erklärlich. Die nähere Untersuchung ergab sofort, daß hier das Auftreten von nicht grünen Schmarotzern der Gattung Cuscuta vorlag. Da die Schmarotzer noch nicht blühten, so konnte die Species nicht festgestellt werden. Dies gelang jedoch, als Mitte August Rübenpflanzen untersucht wurden, deren Blattkronen vollständig von der blühenden Seide umhüllt waren. Die Untersuchung ergab, daß Cuscuta europaea L. vorlag. Da die Erscheinung nur auf einem bestimmten Felde sich zeigte, so war es möglich, dieselben weiter zu verfolgen und wurden bei der Ernte anfangs Oktober weitere Pflanzen untersucht, die in mehr oder weniger heftigem Grade von der Seide befallen waren. Diejenigen Rüben, deren Blattapparat vollständig umsponnen und zum größten Teil im Absterben begriffen war, zeichneten sich durch geringes Gewicht und durch einen sehr geringen Zuckergehalt aus. So waren einige Rübenwurzeln nur 11 und 16 g schwer, andere auch nur 80, 82 und 105 g und enthielten wenig Zucker (7,4, 9,1 und 10,4 Proz.). Diejenigen Rüben, deren Blattapparat weniger von der Seide befallen war, zeigten eine bessere Entwickelung und demgemäß einen höheren Zuckergehalt. Die Pflanzen jedoch, welche von der Seide verschont blieben, hatten sich in Bezug auf das Wurzelgewicht und den Zuckergehalt normal entwickelt. Je mehr die Seide entwickelt war, desto mehr war auch der Blattapparat verkümmert und im Absterben begriffen. Es war daher die Entwickelung der Seide nicht nur von Einfluß auf daß Wurzel- und Blattgewicht der Rübe, sondern auch von unverkennbarer Einwirkung auf die Bildung des Zuckers. Der vorliegende Fall läßt deutlich erkennen, daß das Vorkommen der Seide imstande ist, bei entsprechend großem Auftreten einen ganz

beachtenswerten Schaden an Zuckerrüben anzurichten. Beim Auftreten dieses Parasiten wird es sich daher unbedingt empfehlen, die Seide samt den von ihr befallenen Blättern zu vernichten. Da die Seide schon frühzeitig auftritt, so ist der Schaden, der durch eine radikale Entfernung der befallenen Blätter entsteht, nur ein geringer, um so mehr, als die Rübe noch reichlich Zeit hat, die verloren gegangenen Blätter ersetzen zu können und ihr dann die Gelegenheit zur weiteren normalen Entwickelung gegeben ist.

Bemerkt sei noch, daß im vorliegenden Falle die Vorfrucht Weizen und vor diesem Klee war, welcher damals von Kleeseide befallen worden war. Aus dem fadenartigen Gewirr einiger Rübenpflanzen konnten auch bei der ersten Untersuchung Ende Juni Hopfenkleepflanzen (Medicago lupulina L.) herausgezogen werden.

Der Wurzelkropf gehört, seitdem diese oft seltsam geformten Gebilde durch die Publikationen der letzten 10 Jahre näher bekannt geworden sind, durchaus nicht mehr zu den seltenen Erscheinungen und wurde derselbe auch im Jahre 1901 vielfach gefunden. Ueber die Ursachen der Wurzelkropfbildung bei Zuckerrüben herrschen zur Zeit verschiedene Ansichten vor, zu welchen in den letzten Jahren diejenige Bubák's hinzugekommen ist, der die oft monströsen Ausbildungen dem Auftreten von Milben im Innern des Gebildes zuschreibt. Verf. konnte schon früher die Angaben Bubák's nicht bestätigt finden, hat aber, um die Streitfrage zu lösen, im Jahre 1901 weitere eingehende Untersuchungen angestellt. Es hat sich nun bei Untersuchung vieler Wurzelkropfrüben gezeigt, daß in gesunden Kröpfen niemals Milben gefunden werden konnten, und gelangte zu demselben Resultat auch Csokor, der vom Verf. eine Anzahl gesunder Kröpfe erhielt. In alterierten Rübenkröpfen fanden sich allerdings Milben vor, doch wurden dieselben auch in alterierten Rübenwurzeln gefunden. Sowohl in den Wurzelkröpfen als auch in Zersetzung befindlichen Rüben waren aber die Milben nicht die einzigen Bewohner, nachdem auch hier die harmlosen Anguillulen, sowie andere Würmer und Fliegenmaden in zahlreichen Exemplaren vertreten waren.

Es wurden sogar Wurzelkropfrüben untersucht, bei welchen der Wurzelkropf ganz frei von Milben gefunden wurde, während im eigentlichen Wurzelkörper sich die Tiere angesiedelt hatten. Die ganzen Beobachtungen führen zu dem Schluß, daß die Milben nicht die Ursache des Wurzelkropfes, sondern nur eine zufällige Begleiterscheinung sind, die von dem jeweiligen Zustande des Wurzelkropfes abhängt. Der Wurzelkropf ist kein normales Gebilde und neigt er schon vielfach in der Erde zu Zersetzungen. Es giebt nun viele Lebewesen, die sich auf in Zersetzung begriffenen Pflanzenteilen ansiedeln, weil sie hier alle für ihr Gedeihen notwendigen Lebensbedingungen finden, und zu diesen Lebewesen, d. h. Saprophyten, gehören sicherlich auch die in Rede stehenden Milben. Sie sind hier vielfach nicht die einzigen Lebewesen, sondern finden sich auch in Gesellschaft anderer Saprophyten, von denen es noch Niemand eingefallen ist, zu behaupten, daß sie kropfartige Aus-

wüchse an Zuckerrüben zu erzeugen imstande sind. Die Annahme Bubák's entbehrt daher jeder Begründung, so daß gegenwärtig über den Wurzelkropf noch das zu gelten hat, was Strohmer, Briem und Stift, die sich mit diesem Gegenstand vor 10 Jahren als Erste eingehender wissenschaftlich beschäftigten, gesagt haben. Der Wurzelkropf ist das Produkt einer Hypertrophie, also eine Neubildung, deren eigentliche Ursache noch unbekannt ist.

Die Blattfleckenkrankheit (Cercospora beticola Sacc.) hat sich im allgemeinen gutartig gezeigt, selbst in jenen Fällen, wo die Blätter durch die Thätigkeit des Pilzes beinahe abgestorben war.

Der falsche Mehltau (Peronospora Schachtii Fuckel) und der Rübenrost (Uromyces Betae Tul.) waren ebenfalls nur in geringem Maße aufgetreten und geben keine Veranlassung zu besonderen Bemerkungen. Autoreferat.

Chifflot, Sur l'origine de certaines maladies des Chrysanthèmes. (Compt. rend. Acad. Sc. Paris. 1902. T. CXXXIV. No. 3.)

Die Nematodenkrankheit des Chrysanthemums wird verursacht durch einen Aphelenchus. Betreffend die Symptome und die Ausbreitung der Krankheit werden Osterwalder's Mitteilungen bestätigt. — Die von Joffrin neu beschriebene Septoria varians ist nach Verf. identisch mit S. Chrysanthemi.

Küster (Halle a. S.).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Krieger, Die Organisation der bakteriologischen Untersuchungen in Elsaß-Lothringen vom sanitätspolizeilichen Standpunkte. (Arch. f. ö. Gesundheitspflege in Elsaß-Lothringen. Bd. XXII. 1902. Heft 5. p. 149—155.)

Lingard, A., Annual report of the imperial bacteriologist for the year 1901/2. 15 p. gr. 4°. Calcutta.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Ficker, M., Eine neue Methode der Färbung von Bakterienkörnchen. (Hygien. Rundschau. 1902. No. 22. p. 1131—1133.)

Kasparek, Th., Einige Modifikationen von Einrichtungen für bakteriologische Untersuchungen. Sterilisierbüchsen, Heizung der Brütschränke mit Auerbrennern, elektrischer Heißwassertrichter, ein neuer Wärmwasserapparat und eine Methode zur bakteriologischen Wasseruntersuchung. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXII. Orig. 1902. No. 5. p. 382—385.)

Kraus, R., Ueber eine neue regulierbare Vorrichtuug für den heizbaren Objekttisch. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXII. Orig. 1902. No. 6. p. 467—469.)

Marmier, L., Sur le chauffage électrique des étuves à température constante. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1902. No. 10. p. 779—784.)
Pappenheim, A., Färberisches zur Kenntnis des sog. Chromatinkorns (Kernpunkts) von Protisten. (Berl. klin. Wochschr. 1902. No. 47. p. 1095—1096.)
Rivas, D., Ein Beitrag zur Anaërobenzüchtung. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXII. 1902. No. 11. p. 831—842.)
Rost, E. R., A method of direct cultivation. (Indian med. gaz. 1902. No. 10. p. 390—391.)
Schütze, A., Ueber weitere Anwendungen der Präcipitine. (Dtsche med. Wchschr. 1902. No. 45. p. 804—806.)
Vörner, H., Zur Kultivierung des Microsporon furfur und des Microsporon minutissimum. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXII. Orig. 1902. No. 5. p. 386—393.)
Ziellecky, R., Biochemische und differentialdiagnostische Untersuchungen einiger Bakterien mittels Phenolphtaleïnnährböden. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXII. Orig. 1902. No. 10, p. 752—768.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Ahrens, F. B., Das Gärungsproblem. [Aus: „Samml'g. chem. u. chemisch-tech. Vorträge".] 50 p. gr. 8°. Stuttgart (Ferdinand Enke) 1902. 1,20 M.
Aitken, E. H., Notes of a tour in the North Canara District of India in search of mosquitoes. (Journ. of trop. med. 1902. No. 21. p. 325—327.)
Berndt, A., Beitrag zur Kenntnis der im Darme der Larve von Tenebrio molitor lebenden Gregarinen. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902. Heft 3. p. 375—420.)
Braun, M., Ueber Distoma goliath P. J. v. Ben. 1858. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXII. Orig. 1902. No. 11. p. 800—803.)
Calkins, G. N., Studies on the life-history of protozoa. I. The life-cycle of Paramoecium caudatum. (Arch. f. Entwickelungsmechan. Bd. XV. 1902. Heft 1. p. 139—184.)
Calkins, G. N. and **Lieb, C. C.**, Studies on the life-history of protozoa. II. The effect of stimuli on the life-cycle of Paramoecium caudatum. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902. Heft 3. p. 355—371.)
Camboulin, Contribution à l'étude des Anopheles de l'isthme de Suez. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 17. p. 704—706.)
Cathcart, E. u. Hahn, M., Ueber die reduzierenden Wirkungen der Bakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. XLIV. 1902. Heft 4. p. 295—321.)
Delbrück, M., Der physiologische Zustand der Hefe und seine Bedeutung für die Gärungsgewerbe. [Vortrag.] (Jahrb. d. Vereins d. Spiritusfabr. 1902. p. 303—315.)
González Fabela, O., Exposicion sobre la biologia de las bacterias en general y fundamentos de la clasificación de Cohn y de la clasificación racional. (Bolet. d. Consejo sup. de salubridad. T. VIII. 1902. No. 1. p. 1—50.)
Guilliermond, A., Observations sur la germination des spores du Saccharomyces Ludwigii. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 17. p. 708—710.)
Hansen, E. Chr., Aus der Hefenforschung der neuesten Zeit. [Vortrag.] (Allg. Anzeiger f. Brauereien etc. 1901. p. 1425—1430.)
Hartog, M., Notes on suctoria. 1. Preliminary note on the „Acineta ferrum-equinum" of Zenker. 2. On the reproduction of Rhyncheta Zenker. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902. Heft 3. p. 372—374.)
v. Ihering, H., Die Helminthen als Hilfsmittel der zoogeographischen Forschung. (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 686. p. 42—51.)
Kraft, E., Beiträge zur Biologie des Bacterium prodigiosum und zum chemischen Verhalten seines Pigmentes. [Inaug.-Dissert.] 97 p. 8°. Würzburg 1902.
Lange, H., Ueber neue Verfahren der Hefebereitung. [Vortrag.] (Jahrb. d. Vereins d. Spiritusfabr. 1902. p. 293—302.)
Laveran, A. et **Mesnil, F.**, Des trypanosomes des poissons. (Arch. f. Protistenkunde. Bd. I. 1902. Heft 3. p. 475—498.)
Lesage, P., Première note sur l'influence du substratum dans la germination des spores de Penicillium. (Bullet. de la soc. scientif. méd. de l'Ouest, Rennes. T. XI. 1902. p. 30—33.)
Loeb, L. M., On branching forms of certain bacteria. (Transact. of the Chicago pathol. soc. Vol. V. 1902. No. 7. p. 146—149.)

Omelianski, M. W., Sur la fermentation forménique de la cellulose. (Arch. d. scienc. biolog., St. Pétersbourg. T. IX. 1902. No. 3. p. 251—278.)

Schouteden, H., Aphidologische Notizen. (Zoolog. Anzeiger. 1902. No. 681. p. 654—657.)

Simond, Description d'un moustique dont le mâle possède une trompe en faucille. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 29. p. 1158—1160.)

Stafford, J., Cephalogonimus americanus (new species). (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXII. Orig. 1902. No. 10. p. 719—725.)

Taylor, A. E., Ueber Eiweißspaltung durch Bakterien. (Hoppe-Seyler's Ztschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXVI. 1902. Heft 5/6. p. 487—492.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Luft und Wasser.

Bonjean, E., Les eaux potables. Examen bactériologique et expérimentation physiologique. (Bullet. d. scienc. pharmac. Pt. profess. 1902. p. 212—216.)

Meusburger u. Rambousek, Beitrag zum bakteriologischen Nachweise von Trinkwasserverunreinigungen anläßlich infektiöser Erkrankungen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. 1902. I. Abt. Bd. XXXII. Orig. 1902. No. 6. p. 476—480.)

Meyer, E., Einige neue Apparate zum Schöpfen von Wasser zu bakteriologischen Zwecken. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Bd. XXXII. 1902. No. 11. p. 845—848.)

Thiele, H., Entnahme bakteriologischer Wasserproben. (Ztschr. f. ö. Chemie. 1902. Heft 20. p. 385—387.)

Nahrungs- und Genußmittel, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Edelmann, Rich., Lehrbuch der Fleischhygiene mit besonderer Berücksichtigung der Schlachtvieh- und Fleischbeschau. XVI, 336 p. m. 172 Abbildgn. u. 2 farb. Taf. gr. 8⁰. Jena (G. Fischer) 1902. 8 M.

Ehrlich, Herm., Die Schlachtvieh- und Fleischbeschau nach dem Reichsgesetze vom 3. VI. 1900 und dem preußischen Ausführungsgesetze vom 28. VI. 1902. Unter besonderer Berücksichtigung der für Landwirte und Fleischer in Betracht kommenden Bestimmungen erläutert. VI, 60 p. 8⁰. Berlin (Parey) 1902. 0,80 M.

Guillery, Bemerkungen zur Aetiologie und Prophylaxe des Botulismus. (Dtsche militärärztl. Ztschr. 1902. Heft 11. p. 581—586.)

Hofmann, F., Die angebliche Unschädlichkeit von Borsäure im Fleische. (Dtsche med. Wchschr. 1902. No. 46. p. 832—833.)

Jacobsen, A., Om kontrol med naeringsmidler med saerligt hensyn til konserveringsmidler for kjød. (Maanedsskr. f. dyrlaeger. 1902. Haefte. 7. p. 343—357.)

Koch, Die Fleischbeschau, ihre Aufgaben und der Handel mit minderwertigem Fleisch. (Mtsbl. f. ö. Gesundheitspflege. 1902. No. 11. p. 149—162.)

Profé, Beitrag zur Technik der Trichinenschau. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1902/3. Heft 2. p. 46—50.)

Milch, Molkerei.

Epstein, St., Untersuchungen über die Reifung von Weichkäsen. [2. Mitt.] (Arch. f. Hygiene. Bd. XLV. 1902. Heft 4. p. 354—376.)

Hippius, A., Ueber Milchpasteurisierung in der Kinderpraxis. (Dtsche med. Wchschr. 1902. No. 47. p. 850—851.)

Knoch, C., Pasteurisierte Flaschenmilch, eine Mode der nächsten Zukunft. (Molkerei-Ztg. 1901. p. 677—678, 697—699.)

Oeser, Das Erhitzen der Milch in den Sammelmolkereien zwecks Unterdrückung von Krankheiten. (Landwirtschaftl. Ztg. f. Westfalen u. Lippe. 1902. No. 44. p. 551—552.)

Sion, V. u. Laptes, N., Die hygienische Differenzierung der Marktmilch und deren Derivate auf biologischem Wege. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1902/3. Heft 1, 2. p. 4—7, 33—37.)

Bier, Brauerei.

Gabel, C. F., Ueber Biertrübungen. (Allg. Anzeiger f. Brauereien etc. 1901. p. 1281—1282.)

Michel, K., Wie soll man nach dem heutigen Standpunkt der Wissenschaft und Technik die Gärung führen? (Allg. Anzeiger f. Brauereien etc. 1901. p. 1897—1899.)

Wein, Weinbereitung.

Hotter, E., Belehrung über die Verwendung von reingezüchteter Weinhefe. (Obstgarten. 1902. No. 11. p. 164—166.)

Müller-Thurgau, Zur Umgärung fehlerhafter Weine. (Schweizer. Ztschr. f. Obst- u. Weinbau. 1902. No. 16/17. p. 246—248.)

Wohnungen, Abfallstoffe etc.

Henry, E., La lutte contre le champignon des maisons. Expériences récentes. (Rev. d. eaux et forêts. T. XLII. 1902. livr. 17. p. 513—521.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Krankheitserregende Bakterien und Parasiten. Pflanzenschutz.

Aderhold, R., Die Monilia-Krankheiten unserer Obstbäume und ihre Bekämpfung. 4 p. m. Abbildgn. (Flugblätt. d. kais. Gesundheitsamt., biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtsch. No. 14.) Lex.-8°. Berlin (Paul Parey, Julius Springer) 1902. 0,05 M.

Beauverie, J., Sur une forme particulièrement grave de la maladie des platanes due au Gloeosporium nervisequum Sacc. (Annal. de la soc. botan. de Lyon. Vol. XXVI. 1902.)

Berlese, A., Uccelli entomophagi e insetti parassiti delle forme nocive. (Bollett. d. entomol. agrar. e patol. veget. 1901. No. 4. p. 86—88.)

Beseler, W., Versuche mit Vitriolspritzungen zu verschiedenen Früchten auf Cunrauer Moordämmen. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1902. No. 83. p. 680.)

Bioletti, F. T., The phylloxera of the vine. (Univers. of California coll. of Agricult. Bullet. No. 131.) 16 p. 8°. Sacramento 1901.

Chrzaszcz, T., Die Mikroorganismen der Gersten- und Malzkörner. (Wchschr. f. Brauerei. 1902. No. 40. p. 590—593.)

Cucumber and melon leaf blotch. Cercospora Melonis, Cke. (Journ. of the Board of Agricult. Vol. IX. 1902. No. 2. p. 196—198.)

Gössel, Fr., Zur Bekämpfung des Getreidebrandes. (Amtsbl. d. Landwirtschaftskammer f. d. R.-B. Cassel. 1902. No. 41. p. 390—392.)

Goulard, J., Le black rot en Armagnac. (Rev. de viticult. 1902. No. 459. p. 369—371.)

Hollrung, Der falsche Mehltau Peronospora Schachtii in den Rübensamenfeldern und dessen Bekämpfung. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1902. No. 19. p. 289—291.)

Massee, G., Larch and spruce fir canker. (Journ. of the Board of Agricult. London. Vol. IX. 1902. No. 2. p. 176—188.)

Mc Alpine, Diseases of plants and their remedies. IV. Brown rot or ripe rot of fruit. (Agricult. journ. Vol. I. Victoria 1902. p. 701—702.)

Meissner, R., Ein Feind unserer anhaltischen Weinstöcke. (Unser Anhaltland, Dessau 1901. p. 34—36.)

Moritz, Maßregeln zur Bekämpfung der Reblaus und anderer Rebenschädlinge im Deutschen Reiche. Zusammenstellung der in Geltung befindlichen reichs- und landesgesetzlichen Vorschriften, sowie einer Anzahl ergangener Vollzugsverfügungen. XXIII, 370 p. 8°. Berlin (Parey-Springer) 1902. 4 M.

Noel, P., La hernie du chou. (Naturaliste. 1902. No. 374. p. 226—227.)

Oehmichen, P., Nützliche und schädliche Kleintiere des Feld-, Obst- und Weinbaues. Leitfaden für den Unterricht an landwirtschaftl. Lehranstalten u. zum Gebrauche für praktische Landwirte. VII, 88 p. m. 44 Holzst. gr. 8°. Leipzig (Karl Scholtze) 1902. 1,20 M.

Pacottet, P., La maladie rouge. (Rev. de viticult. 1902. No. 456. p. 285—287.)

Potter, M. C., On the parasitism of Pseudomonas destructans (Potter). (Proceed. of the R. soc. of London. Vol. LXX. 1902. p. 392—397.)

Reh, L., Die Zoologie im Pflanzenschutz. (Verhandl. d. dtsch. zoolog. Ges. Leipzig [Wilhelm Engelmann] 1902. p. 186—192.)
Roger, R., La pourriture grise. (Journ. d'agricult. prat. 1902. No. 39. p. 411.)
Rübsaamen, E. H., Mitteilungen über die von Herrn J. Bornmüller im Oriente gesammelten Zoocecidien. (Zoolog. Jahrb. Abt. f. System., Geogr. u. Biol. d. Tiere. Bd. XVI. 1902. Heft 2. p. 243—336.)
Sobotta, Welche Maßregeln sind angesichts der überhandnehmenden Getreideschädlinge zu ergreifen? (Dtsche Landwirtschafts-Ztg. 1902. No. 42. p. 47—48.)
Stift, A., Weitere Mitteilungen über das Auftreten des neuen Rübenschädlings Eurycreon sticticalis L. Wien. landwirtschaftl. Ztg. 1902. No. 72. p. 616.)
Thömsgen, Die Aelchen- oder Stockkrankheit des Hafers (durch Tylenchus devastatrix Kühn). (Hessische landwirtschaftl. Ztschr. 1902. No. 40. p. 408—409.)
Wiener, E., Die Mäuse- und Rattenplage. (Ztschr. f. d. landwirtsch. Versuchswesen in Oesterreich. 1902. Heft 9. p. 1009—1035.)
Zschokke, A., Ueber eine Bakterienkrankheit des Rebstockes. (Pfälz. Wein- u. Obstbau-Ztg. — Weinlaube 1902. No. 37. p. 436—437.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Haywood, J. K., The chemical composition of insecticides and fungicides. U. S. Departm. of Agricult. Bur. of chemistry. Bullet. No. 68. 62 p. 8°. Washington 1902.

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

IX. Band. **Jena,** den 30. Dezember 1902. **No. 25.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten für jede Tafel 60 Pfg. mehr.
Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Original-Mitteilungen.

Infektionsversuche mit einigen Uredineen.

Von Dr. **Fr. Bubák,** Prag.

Mit 16 Textfiguren.

Im 3./4. Heft des IX. Bd. dieses Centralbl. habe ich eine vorläufige Nachricht über meine im Jahre 1901 und 1902 durchgeführten Infektionsversuche mit einigen Uredineen veröffentlicht. Im Folgenden publiziere ich die ausführliche Beschreibung der betreffenden Versuche und Pilze:

1. Puccinia Balsamitae (Strauss) Wint.

Die vollständige Entwickelung dieser Puccinie ist bisher unbekannt geblieben, und deswegen wurde sie in der Gruppe der

Hemipuccinien einverleibt. Es ließ sich jedoch mit Bestimmtheit vermuten, daß sie eine Brachypuccinie ist.

Um dies zu beweisen, unternahm ich im Jahre 1901 Infektionsversuche mit derselben. In üblicher Weise überwinterte Teleutosporen wurden auf 2 Topfpflanzen von Tanacetum Balsamita am 14. Mai aufgetragen, die Pflanzen dann unter einer Glasglocke bis zum 17. Mai feucht gehalten.

Das Resultat ließ ziemlich lange auf sich warten, denn erst am 29. Mai erschienen auf den Blättern Spermogonien und am 1. Juni primäre Uredo. Auf den Blättern, welche am 4. Juni eingelegt wurden, bemerkt man Folgendes:

Honiggelbe Spermogonien befinden sich auf kleinen, bleichen Flecken auf der unteren Blattfläche, seltener auf der oberen, in kleinen Gruppen höchstens bis 8 auf einem Flecke.

Primäre Uredosporen bilden größere braune Häufchen auf der Blattoberfläche und sind von einer glänzenden Epidermis bedeckt; seltener fand ich sie auf der Blattunterseite. Primäre Uredosporen sind kugelig, eiförmig oder ellipsoidisch, gelbbraun, 28,6—35,2 μ lang, 26,4—33 μ breit, feinstachlig und besitzen 3 Keimporen, welche mit einer kräftigen, flachen Papille versehen sind.

Bei der Durchsicht des Herbarmaterials fand ich dann, daß ich schon im Jahre 1896 veraltete primäre Uredo in Rovensko (Böhmen) am 30. Juli gesammelt habe. Auch in einem Exemplare dieses Pilzes, welches ich von H. Bäumler erhielt und welches derselbe bei Preßburg (Munker Garten) gesammelt hatte, fand ich auf allen Blättern ältere primäre Uredohäufchen.

Auf beiden diesen Exemplaren stehen sie auf rundlichen, gelblichen Flecken, die etwa 5 mm im Durchmesser haben, und zwar findet man sie auf beiden Blattflächen. Spermogonien sind auf diesen, in der Entwickelung schon weit vorgeschrittenen Exemplaren nicht mehr zu finden.

Durch diesen Versuch wurde also die Vermutung bestätigt, daß Puccinia Balsamitae eine Brachypuccinia ist.

2. Aecidium Thymi Fuckel.

Dieses Aecidium wird von Winter (1) und nach seinem Vorgange auch von anderen Mykologen zu Puccinia Schneideri Schröt. (P. caulincola Schneid.) gezogen. Das Vorkommen des genannten Aecidiums in Böhmen z. B. bei dem Kuchelbader Kirchlein nächst Prag und bei Welwarn, wo die Teleutosporenform auf Thymus nie gefunden wurde, machte die Zugehörigkeit desselben zu Puccinia Schneideri sehr unwahrscheinlich.

Am Kuchelbader Standorte fand ich mit den Aecidien gemeinschaftlich Puccinia Stipae (Opiz) auf Stipa capillata und Pucc. Cesatii Schröt. auf Andropogon Ischaemum, so daß nur diese 2 Puccinien in Betracht gezogen werden konnten. Ich bat deshalb Herrn Dir. Kabát auch den Standort bei Welwarn

zu besuchen und festzustellen, mit welchen Gramineen-Puccinien dort das Aecidium zusammen vorkommt. H. Kabát fand daselbst nur Teleutosporen der Puccinia Stipae auf Stipa capillata, so daß man mit größter Wahrscheinlichkeit auf eine genetische Verbindung beider Pilze schließen konnte.

Das Infektionsmaterial zu den Versuchen wurde von H. Kabát im Herbst 1901 gesammelt, in üblicher Weise im Freien überwintert und mir im Frühjahre gefälligst zur Verfügung gestellt. Ich führte aus den oben angeführten Gründen meine Infektionsversuche nur auf Thymus-Arten durch.

Infektion auf Thymus pannonicus Willd.

Am 14. April 1902 wurden 2 Individuen dieser Pflanze in Töpfe gepflanzt. Nachdem sie sich erholt hatten, wurden teleutosporentragende Blätter auf die kleinen Sträucher gelegt, die Pflanzen befeuchtet und unter eine Glasglocke gestellt. Die Stipa-Blätter mußten der Länge nach gespalten werden, da sich die Teleutosporen immer in den Rinnen der eingerollten Blätter befinden. Am 25. wurden die Glocken von den Versuchspflanzen entfernt. Am 29. April erschienen an 3 Blättern verschiedener Aeste Spermogonien, am 14. Mai erste geöffnete Aecidien. Die Inkubationsdauer (bis zum Erscheinen der Spermogonien) beträgt in diesem Versuche 6 Tage.

Infektion auf Thymus ovatus Mill.

Die Infektion wurde am 7. Mai vorgenommen, die Versuchspflanzen 2 Tage unter der Glocke feucht gehalten. Spermogonien erschienen am 14. Mai auf einigen Blättchen, am folgenden Tage fast auf allen Blättchen der Versuchspflanzen. Die Inkubationsdauer beträgt bei diesem Versuche 7 Tage. Das Infektionsresultat war sehr stark, so daß viele Blättchen mit dichtgedrängten Spermogonien bedeckt waren, und später auch manche von ihnen zu Grunde gingen. Erste reife Aecidien erschienen am 25. Mai.

Infektion auf Thymus praecox Opiz.

Infektion durchgeführt am 7. Mai, bis zum 9. Mai blieben die Versuchspflanzen unter einer Glasglocke. Am 18. Mai erste Spermogonien, welche am 19. eingelegt wurden, da die Pflanzen sichtlich sich im Absterben befanden. Inkubationsdauer beträgt 11 Tage.

Im Freien fand ich auf Thymus praecox Opiz dieses Aecidium sehr schön entwickelt auf dem Hügel Vinek bei Vrážkov nächst Raudnic am 20. Juni in Gesellschaft mit den Teleutosporen auf Stipa capillata.

Infektion auf Thymus angustifolius Pers.

Zwei in Töpfe gepflanzte Individuen dieser Pflanze wurden am 30. Mai mit teleutosporentragenden Blättern belegt und unter

der Glasglocke 2 Tage gehalten. Spermogonien erschienen am 10. Juni, also nach 12-tägiger Inkubationsdauer, und zwar nur auf einem Blatte eines infizierten Individuums, in sehr geringer Anzahl. Das infizierte Blatt starb jedoch am 12. Juni ab, ohne daß sich Aecidien entwickelt hätten.

Ich wiederholte deswegen an demselben Tage (12. Juni) die Infektion auf denselben Versuchspflanzen, mit völlig keimfähigem Materiale. Auch diese Infektion blieb aber ohne Erfolg. Nach diesen Versuchen scheint es, daß der Pilz auf Thymus angustifolius überhaupt schwer überzugehen vermag.

Dagegen muß aber hervorgehoben werden, daß Fuckel (2) sein Aecidium Thymi gerade auf Thymus serpyllum L. var. angustifolia gefunden hat. Deswegen ist es also nötig, die Infektion auf dieser Nährpflanze nochmals zu wiederholen. Ich beabsichtige im Frühjahre Keimpflanzen von Thymus angustifolius und auch ältere Exemplare derselben Pflanzenart zu diesen Versuchen herbeizuziehen.

Infektion mit Aecidiosporen von Thymus ovatus auf Stipa capillata.

Am 28. Mai wurden auf die jüngsten Blätter einer Topfpflanze von Stipa capillata die Sporen des auf Thymus ovatus gezüchteten Aecidiums mittelst eines feinen Haarpinsels aufgetragen. Die Pflanze wurde dann in gewöhnlicher Weise unter einer Glasglocke aufbewahrt. Nach 2 Tagen wurde die Glocke entfernt. Am 10. Juni bemerkte ich auf einem Blatte der infizierten Pflanze einige geschlossene Uredopolster, die sich am folgenden Tage öffneten. Die Inkubationsdauer betrug 13 Tage. Zu Teleutosporenbildung kam es aber nicht, da das Blatt bald danach vertrocknete.

Aus den angeführten Infektionsversuchen geht also hervor, daß Aecidium Thymi Fuckel in den Entwickelungskreis der Puccinia Stipae Opiz auf Stipa capillata gehört.

Nachdem ich diesen Zusammenhang ermittelt habe, besuchte ich nochmals den Kuchelbader Standort und fand dort auch in diesem Jahre am 19. Mai schön entwickelte Aecidien auf Thymus pannonicus neben schon ausgekeimten Teleutosporen auf Stipa capillata. Am 20. Juni entdeckte ich bei Vrážkov neben alten, ebenfalls ausgekeimten Teleutosporen auf demselben Grase auch Aecidien auf Thymus praecox.

Was die Nomenklatur dieser Puccinia betrifft, so führe ich Folgendes an:

Die Teleutosporengeneration wird zuerst von Opiz in seinem „Seznam rostlin květeny české“. Prag 1852. p. 138 erwähnt, und zwar unter dem Namen Puccinia graminis Pers., c) foliorum β) Stipae Opiz.

Im Jahre 1888 gab Hora diesen Pilz in Sydow's Uredineen

No. 28 vom Kuchelbader Standorte aus, und zwar als Puccinia Stipae (Opiz) Hora.

Es existiert aber noch ein älterer Pilz, welcher denselben Namen führt, nämlich Puccinia Stipae Arthur von Stipa Spartea aus Jowa (3) und Stipa comata aus Montana (4). Derselbe soll nach Dietel's (5) Vermutung mit Puccinia Stipae identisch sein. Sollte sich dies bestätigen, dann müßte der Name auch für den europäischen Pilz Puccinia Stipae (Opiz) Arthur lauten.

Ich konnte den amerikanischen Pilz nicht untersuchen, sondern nur seine Diagnose in Sacc. Syll. VII, p. 661 mit dem europäischen vergleichen. Auf Grund dieses Vergleiches halte ich es nicht für ausgeschlossen, daß beide Pilze identisch sein können. Es muß aber betont werden, daß Aecidium Thymi aus den Vereinigten Staaten Nordamerikas bisher nicht bekannt ist, so daß ich vorläufig der ersten Benennung den Vorzug gebe.

Diagnose:

Puccinia Stipae (Opiz) Hora. — Aecidium Thymi Fuckel. — Pucc. caulincola Winter quoad Aecidium. — Puccinia Thymi Karsten (6) quoad Aecidium.

Spermogonien klein, kegelförmig, orangegelb, auf beiden Blattflächen ziemlich dicht gestellt. Aecidien auf der Blattunterseite spärlich entwickelt, zerstreut oder in kleinen, kreisförmigen Gruppen dicht gedrängt, manchmal auch die ganze Blattunterseite bedeckend. Pseudoperidien aus sehr langen Zellen zusammengestellt, anfangs halbkuglig, später in der Mitte löcherförmig geöffnet. Sporen kuglig, ellipsoidisch bis länglich, oft polygonal, mit dicker, gelbbrauner, feinkörniger Membran, 17—22 μ im Durchmesser oder 22—31 μ lang, 15,4—20 μ breit.

Uredolager auf der Blattoberseite, sehr selten auf den Blattscheiden, klein, strichförmig, zwischen den Nerven gelegen, oft der Länge nach zusammenfließend, bald nackt, staubig, rostrot; Uredosporen kuglig, 19,8—26,4 μ im Durchmesser oder eiförmig, 24,2—30,8 μ lang, 19,8—24,2 μ breit, orangerot, feinstachelig, mit vielen (bis 10) Keimporen.

Teleutosporen wie die Uredolager, aber schwarz, später polsterförmig, fest; Teleutosporen oblong, keil-, keulen- oder spindelförmig, 41,8—88 μ lang, 17,6—24,2 μ breit, hellkastanienbraun, in der Mitte gewöhnlich stark eingeschürt; Scheitelzelle dunkler, breiter, kürzer oder länger als die Basalzelle, am Scheitel bis auf 11 μ verdickt, daselbst dunkler und stumpf kegelförmig verjüngt oder abgerundet, seltener abgestutzt; Basalzelle keilförmig in den Stiel zusammengezogen, seltener unten abgerundet; Stiel gelblich, bis 100 μ lang.

Außer den zweizelligen Sporen findet man öfters in den Teleutosporenlagern folgende Sporenformen:

1) Einzellige, Uromyces-artige Teleutosporen: 39,6 × 22; 48,4 × 17,6; 28,6 × 17,6; 44 × 19,8 μ etc.

2) Dreizellige, Phragmidium-ähnliche Teleutosporen: 48,4 × 24,2; 52,8 × 22; 55 × 22; 59,4 × 22; 66 × 22 μ etc.

3) Dreizellige, Triphragmium-artige Teleutosporen: z. B. 41,8 × 35,2; 44 × 33.

4) Vierzellige, Phragmidium-artige Teleutosporen: z. B. 55 × 22 μ.

5) Diorchidium-artige Teleutosporen: z. B. 33 μ hoch, 39,6 μ breit.

Aecidien im Mai und Juni auf Thymus-Arten in Mittel- und Südeuropa. Ich sah bisher folgende Exsiccaten:

Thymus angustifolius Pers. Deutschland: Budenheimer Wald (Fuckel; vor mir nicht gesehen); bei künstlicher Infektion habe ich nur Spermogonien erzielt.

Thymus ovatus Mill. Künstlich von mir erzogen. — Bulgarien: Trojan Balkan (legit Urumoff, dedit Velenovský).

Thymus pannonicus Willd. Künstlich von mir erzogen. — Böhmen: Kuchelbad (1857 Nickerle, 16. Mai 1902 ipse legi); Welwarn (Kabát, 11. Juni 1898).

Thymus praecox Opiz (= Th. humifusus Bernh.). Spermogonien von mir künstlich erzogen. — Böhmen: Hügel Vínek bei Vrážkov nächst Raudnic (20. Juni 1902, ipse legi); Thüringen: Bei Frankenhausen (7. Juni 1880, leg. Oertel; Rabh. — Winter, Fungi europaei 2616).

Uredosporen im Juni, Juli, Teleutosporen von Juli an auf Stipa capillata:

Böhmen: Kuchelbad (Hora III, 25. Sept. 1888; ipse legi III, 18. Sept. 1897; II, III, 21. Juli 1902); Hügel Vínek bei Vrážkov nächst Raudnic (vorjährige III, ipse legi); Welwarn (Kabát III, 30. Okt. 1901). Ungarn: Preßburg (Bäumler II, III, Aug. 1893).

In der mir zugänglichen Litteratur finde ich noch bei Karsten, l. c. bei Puccinia Thymi (Fuckel) Karsten auch die Aecidien beschrieben; es ist aber sicher, daß Karsten die Aecidien nur nach dem damaligen Gebrauche zu den Teleutosporen zieht und daß Aecidium Thymi in Finnland überhaupt nicht vorkommt, da dort auch Stipa capillata fehlt.

Aus den Resultaten meiner Infektionsversuche geht auch weiter indirekt hervor, daß **Puccinia Schneideri** Schröter (Pucc. caulincola Schneider) eine Micropuccinia ist.

Puccinia Schneideri hat eine ziemlich weite Verbreitung in Nord- und Mitteleuropa, aber ihre Standorte sind sehr zerstreut, so daß sie zu selteneren Uredineen gehört. Ich sah sie von diesen Standorten:

Thymus alpestris Tausch. Riesengrund im Riesengebirge (Domin)!

Thymus angustifolius Pers. Pommern. Insel Rügen [Sydow (7) in seinen Uredineen, 1321]. Mark Brandenburg: Biesenthal (Uhle in Rabh.-Winter, Fung. europ., 2617).

Thymus ovatus Mill. Böhmen: Freiheit im Riesengebirge (Domin). Ungarn: Prenčov (Kmet).

In der Litteratur finde ich noch folgende Angaben über ihr Vorkommen auf Thymus Serpyllum (ob auch immer Thymus Serpyllum L., welcher Thymus angustifolius Pers. darstellt?):

Finnland: Karsten, l. c., ohne nähere Standortsangabe. — Westgrönland (8): Kagsiarsuk i Igalikofjord (leg. Kolderup Rosenvinge). — England (9): Aberdeen (leg. Trail). — Dänemark (Rostrup). — In Schlesien von mehreren Lokalitäten von Schröter (10) angegeben. — Schweiz: Ragaz [Fuckel (11)].

Die von Puccinia Schneideri angegriffenen Sprosse der Nährpflanzen haben ein hexenbesenartiges Aussehen.

Lagerheim beschreibt in Hedwigia 1889. p. 106 eine Varietät von Puccinia Schneideri auf Teucrium montanum von Istein bei Baden, welche besser für eine selbständige Art zu deuten ist und dann den Namen **Puccinia constricta** (Lagerh.) erhalten muß.

3. **Endophyllum Sedi** (DC.) Lév.

Endophyllum Sedi wird von allen Mykologen bis auf Schröter zur Gattung Endophyllum gezogen, wozu gewiß das analoge Aussehen dieses Pilzes mit Endophyllum Sempervivi viel beigetragen hat.

Schröter (12) beobachtete bei seinen Keimungsversuchen mit Endophyllum Sedi von Sedum acre, boloniense und reflexum, daß die Keimschläuche keine Sporidien abschnürten, sondern sich nur verlängerten und verzweigten.

Ich fand diesen Pilz in Böhmen schon im Jahre 1901 zahlreich an einigen Lokalitäten bei Prag. Im Frühjahr 1902 entdeckte ich ihn an vielen neuen Standorten in den wärmsten Gegenden Böhmens, wo er oft massenhaft auftrat.

Ich stellte mit den Sporen des Pilzes Keimungsversuche an und zwar brachte ich sie unter Wahrung aller Reinlichkeitskautelen in hängende Wassertropfen einiger feuchter Kammern. Die Versuche wurden am 20. April um 5 Uhr nachmittags angestellt; am anderen Tage um 9 Uhr vormittags waren schon fast alle Sporen ausgekeimt.

Die Keimung verläuft in folgender Weise: Es drängt sich zuerst aus der Sporenmembran ein kurzer, keulenförmiger Schlauch (Fig. 1), welcher sich nach kurzer Zeit bis zur Länge des Sporendiameters verlängert, immer aber noch dieselbe keulenförmige Gestalt behält (Fig. 2). Bei nachheriger Verlängerung verschmälert er sich im oberen Teile, während der untere Teil dazwischen ein wenig anschwillt (Fig. 3—4). Zugleich geht auch der ganze Sporeninhalt in den Keimschlauch über, so daß dieser von den gelbroten Oeltropfen orangerot gefärbt wird.

Nach 15 Stunden sind die Keimschläuche schon vielmals länger als der Sporendurchmesser, die gelben Oeltropfen sind im Schlauche zerstreut oder am Ende des Keimschlauches angehäuft (Fig. 5—6). Zugleich fangen die Schlauchenden an sich zu krümmen und ragen über die Wasseroberfläche hervor.

Nachmittag um 2 Uhr, also nach 20 Stunden, bilden die Schläuche an ihren Enden über dem Wasser schöne Spiralen (Fig. 7—8), die während des zweiten Keimungstages immer komplizierter werden.

Eine Verzweigung der Keimschläuche bemerkte ich aber dabei niemals. Zu einer Sporidienabschnürung kam es ebenfalls weder

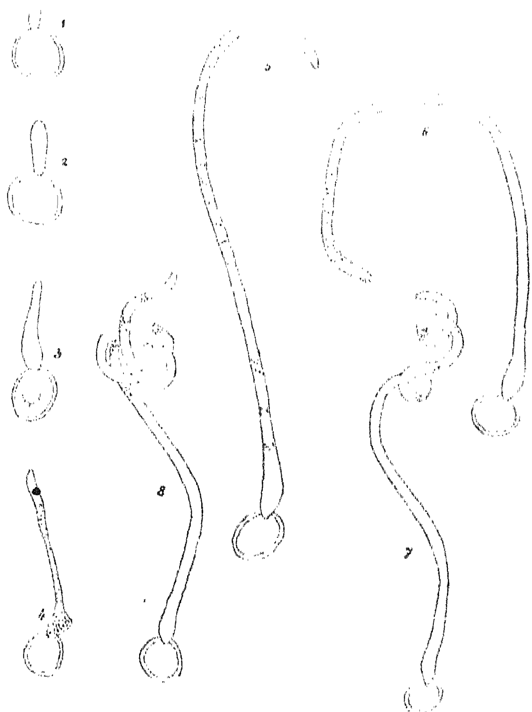


Fig. 1—8. Keimungsverlauf der Aecidiosporen von Sedum boloniense Vergr. Reichert. Oc. 2, Obj. 4. (Reproduktion aber nur ²/₃.)

am 3. noch am 4. Tage in keiner Versuchsnummer. Dadurch wurde also die Angabe von Schröter, daß Endophyllum Sedi ein Aecidium ist, bestätigt.

An den böhmischen Standorten fand ich Aecidium Sedi immer in Gesellschaft von Andropogon ischaemum und Koeleria gracilis, wobei ich am erstgenannten Grase öfters Uredosporen, nie aber Teleutosporen fand; auf Koeleria gracilis konnte ich aber trotz eifrigsten Suchens gar keine Sporenform finden.

Infektionsversuche mit Aecidium Sedi auf Andropogon ischaemum.

Am 20. April wurden Aecidiosporen von Sedum boloniense auf junge Blätter der Versuchspflanzen aufgetragen und außerdem

noch Aecidien tragende Exemplare derselben Sedum-Art auf einige Topfpflanzen verteilt. Diese wurden dann 2 Tage unter einer Glasglocke feucht gehalten. Es trat aber kein Erfolg ein.

Am 12. Mai wurde die Infektion auf denselben Pflanzen wiederholt. Als Infektionsmaterial dienten Aecidien von Sedum acre und Sed. boloniense, welche von dem Berge Lovoš bei Lovosic stammten. Auch dieser Versuch blieb resultatlos.

Infektionsversuche mit Aecidium Sedi auf Koeleria gracilis.

Die Infektion auf Koeleria gracilis wurde schon am 20. April mit dem Materiale von Velenka bei Sadská durchgeführt. Die Aecidiosporen stammten von Sedum boloniense. Am 2. Mai, also nach 12-tägiger Inkubationsdauer, erschienen auf den infizierten Pflanzen erste Uredohäufchen, am 4. Mai waren viele Blätter mit Uredolagern voll bedeckt.

Die Infektion wurde am 12. Mai an anderen Nährpflanzem wiederholt und zwar mit dem Materiale von Sedum acre und boloniense, welches ich auf dem Berge Lovoš bei Lovosic sammelte. Nach 8-tägiger Inkubationsdauer, also am 20. Mai, erschienen die ersten Uredohäufchen in allen Versuchsnummern und am 24. Mai waren schon die Blattscheiden mit Uredolagern bedeckt.

Durch diese Versuche habe ich also bewiesen, daß Endophyllum Sedi ein Aecidium ist und daß es in den Entwickelungskreis einer Puccinia auf Koeleria gracilis gehört.

Nachdem ich diesen Zusammenhang entdeckt habe, besuchte ich auch einige Standorte von Aecidium Sedi und fand immer daselbst Uredolager auf den Blättern von Koeleria gracilis. In dem Kiefernwalde bei Sadská sammelte ich sie auch auf Koeleria glauca.

Zur Entwickelung der Teleutosporen kam es bei meinen Versuchen nicht. Im Freien fand ich sie auf Koeleria gracilis allerdings immer, obzwar in manchen Fällen erst ziemlich spät im Herbste. Auf Koeleria glauca suchte ich sie bei Sadská noch am 9. September vergeblich, obwohl sie z. B. von Lagerheim [1]) in Schweden (Aehus in Scania) schon im Juli auf derselben Nährpflanze gesammelt wurden.

Was die Nomenklatur des Pilzes betrifft, so existieren zwei Puccinien von Koeleria-Arten. Der ältere Pilz wurde von Fuckel im Jahre 1869 in seinen „Symbolae mycologicae". p. 59 als Puccinia paliformis auf Koeleria cristata aufgestellt. Nach Winter (13) ist die Nährpflanze dieses Pilzes wohl eine Carex-Art. Dagegen muß aber hervorgehoben werden, daß Plowright (14) diesen Pilz ebenfalls wie Fuckel von Koeleria cristata von Aberdeen (leg. Trail) anführt.

1) Sydow's Uredineen. No. 1074.

Allerdings hat dieser Pilz mit dem, um welchen es sich bei meinen Versuchen handelt, gar keine Aehnlichkeit, wie aus dem Vergleiche der betreffenden Diagnosen klar hervorgeht.

Dagegen stimmt unsere böhmische Koelerien-Puccinie in ihrer Teleutosporenform vollkommen mit der Beschreibung von der Schröter'schen (15) Puccinia longissima überein, besonders wie dieselbe in Winter's „Pilze Deutschlands". p. 170—171 beschrieben wird.

Nach De Toni (16) gehört zu Puccinia longissima teilweise auch Pucc. paraphysaria Bagni (17) auf Koeleria Berythriae aus Aegypten (leg. Barbey).

Schröter hat von seiner Puccinia nur Teleutosporen gefunden und beschrieben; die Uredosporen wurden zuerst von Lagerheim (18) entdeckt und beschrieben.

Diagnose: **Puccinia longissima** Schröter. Aecidium Sedi DC. 1805 (nach Schröter, Pilze Schlesiens. Bd. I. p. 381). — Uredo Sedi DC., Flor. franç. T. II. p. 227. — Endophyllum Sedi Winter, Saccardo, Syll. etc.

Hetereupuccinia.

Aecidien: Mycel durchzieht den ganzen befallenen Sproß. Spermogonien groß, schwarzbraun, kegelförmig; Spermatien eiförmig oder ellipsoidisch. Pseudoperidien tief im Blattgewebe eingesenkt, halbkugelig über die Blattfläche gewölbt, dann löcherförmig geöffnet; Pseudoperidienzellen in regulären Reihen, rundlich bis länglich, gewöhnlich eckig, mit gelblichem Inhalt, 28—40 μ lang, 22—28 μ breit, dicht und feinkörnig. Sporen kuglig bis länglich, immer eckig, 22—33 μ lang, 19,8—30,8 μ breit, mit fein- und dichtwarziger, farbloser Membran und orangerotem Inhalt.

Uredolager parallel zwischen den Nerven auf der Blattoberfläche gelegen, auf der entgegengesetzten Seite durch rotbraune oder gelbrote Flecken markiert, seltener auf den Blattscheiden, strichförmig, oft der Länge nach zusammenfließend, bald nackt, staubig, rostrot; Sporen (Fig. 9—12) meistens kuglig, selten eiförmig bis länglich, 26,4—39,6 μ lang, 22—33 μ breit, mit gelblicher, feinstachliger Membran, orangerotem Inhalt und vielen (10 und mehr) Keimporen; Stiel farblos, zart, wellig gebogen, bis 66 μ lang, oben paraphysenartig aufgeblasen und bis 6,6 μ breit.

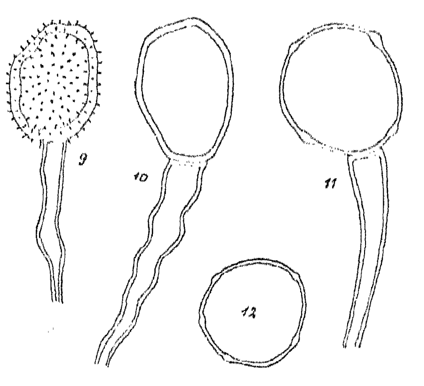


Fig. 9—12. Uredosporen von Puccinia longissima auf Koeleria gracilis; Fig. 12 vom Scheitel gesehen. Vergr. Reichert. Oc. 2, Obj. 8. (Reproduktion $^2/_3$.)

Teleutosporenlager nur auf den Blättern, auf braunen oder rotbraunen Flecken, wie Uredolager beschaffen, aber schwarz, fest, von grauer Epidermis teilweise bedeckt; Sporen (Fig. 13—16) sehr variabel, gewöhnlich lang walzen- oder keulenförmig, seltener länglich-ellipsoidisch, 55—125 μ lang, 13,2—26,4 μ breit, gelbbraun; Scheitelzelle ellipsoidisch, oblong oder walzenförmig, oben abgerundet, verschmälert oder selten abgestutzt, daselbst dunkler und bis auf 11 μ verdickt; Basalzelle lang keulenförmig, in den Stiel verjüngt, auch oblong oder walzenförmig, oft um 1/3 länger als die Scheitelzelle; Stiel ziemlich dick, fest, bis 22 μ lang, farblos.

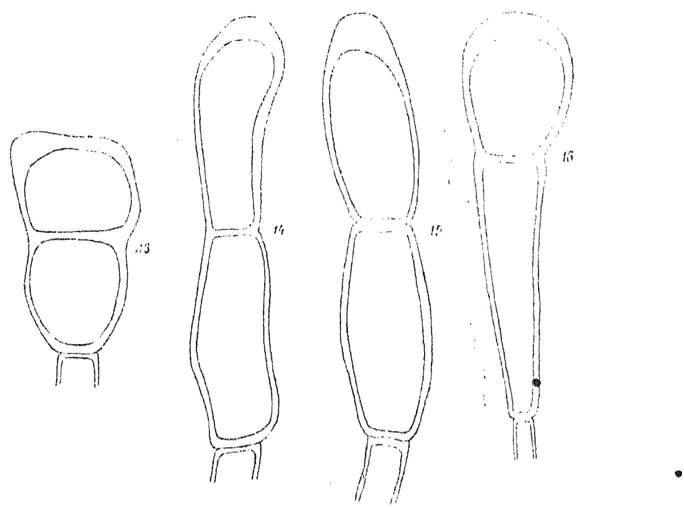


Fig. 13—16. Teleutosporen desselben Pilzes. Vergr. Reichert. Oc. 2, Obj. 8. (Reproduktion 2/3.)

Aecidien von Mitte April bis Mitte Juni. Die befallenen Sprosse sind verlängert und gewöhnlich mehr oder weniger rot angelaufen, so daß sie unter den gesunden Pflanzen leicht kenntlich sind.

Sedum acre: Schlesien (Schröter); Böhmen (ipse legi); Niederösterreich [Beck] (19); Steiermark [Wettstein] (20); Ungarn (Kmeť).

Sedum boloniense: Viel verbreitet in Böhmen und zwar im Milleschauer Mittelgebirge und bei Prag; Schlesien (Schröter).

Uredosporen von Mai, Teleutosporen von Juli bis zum Winter.

Koeleria gracilis: Viel verbreitet in Böhmen.

Koeleria cristata: Schlesien (Schröter).

Koeleria glauca: Böhmen, bei Sadská. Schweden (Lagerheim in Syd. Ured. 1074).

Die Aecidien wurden außerdem auf Sedum purpurascens von Allescher bei München gesammelt! Dann werden sie noch auf Sedum maximum, reflexum, sexangulare (21) und pruinatum (22) augegeben.

Was Sedum purpurascens, maximum und pruinatum

betrifft, so muß erst durch Kulturversuche entschieden werden, ob sie hierher gehören oder nicht. Sedum sexangulare ist nur eine Form von Sedum acre, so daß auch das Aecidium von dieser Nährpflanze hierher gehören kann.

Von den Aecidien auf Sedum reflexum wurde von Dietel nachgewiesen, daß sie in den Entwickelungskreis der Puccinia australis Körnicke auf Molinia serotina gehören.

4. Aecidium lactucinum Lagerh. et Lindr.

Am 12. Juni 1902 fand ich in den Wäldern bei St. Ivan nächst Prag, in einem tiefen Hohlwege auf Lactuca muralis und Lactuca scariola das oben genannte Aecidium.

Ich habe mich mit demselben schon im Jahre 1900 beschäftigt und habe schon damals erkannt, daß es von dem amerikanischen Aecidium Compositarum var. Lactucae Burr. verschieden ist und gab ihm den Namen Aecidium Opizii m., welches ich erst später in meinem I. Bande der böhmischen Pilze publizieren wollte. Seitdem ist es aber von Lindroth (23) unter dem obigen Namen veröffentlicht worden.

Von der Annahme ausgehend, daß die isolierten Kompositen-Aecidien zu Carices bewohnenden Puccinien gehören, untersuchte ich die betreffende Lokalität und fand daselbst Carex digitata und Carex muricata. Die vorjährigen Blätter der letztgenannten Carex-Art waren vollständig mit Teleutosporenlagern bedeckt. Da aber Schröter (24) zu Puccinia tenuistipes Rostrup von Carex muricata die Aecidien von Centaurea Jacea zieht, und zwar auf Grund seiner Infektionsversuche, so entschloß ich mich, die Infektion auch auf Luzula pilosa vorzunehmen, welche ebenfalls in der Nähe des Aecidiums wuchs.

Am 13. Juni wurden Topfpflanzen von Carex digitata, C. muricata und Luzula pilosa in üblicher Weise mit Aecidiosporen von Lactuca muralis belegt.

Mit Aecidiosporen von Lactuca scariola wurde nur eine zweite Topfpflanze von Carex muricata besät.

Der Erfolg trat am 26. Juni auf beiden infizierten Individuen von Carex muricata auf. Carex digitata und Luzula pilosa blieben pilzfrei.

Am genannten Tage waren die Uredolager noch wenig entwickelt, erst am 29. Juni platzten einige derselben, indem zugleich auf allen jüngeren Blättern sehr zahlreiche neue Lager auftraten.

Im September fand ich auf den infizierten Exemplaren auch Teleutosporen.

Durch diese Infektionsversuche habe ich also bewiesen, daß Aecidium lactucinum von Lactuca muralis und L. scariola in den Entwickelungskreis einer Puccinia auf Carex muricata gehört.

Am 20. Juni fand ich die Aecidien bei Unter-Beřkovic und am 6. Juli bei Jedomělic nächst Schlan wieder und zwar auf Lactuca muralis. Auf beiden Standorten entdeckte ich auch auf vor-

jährigen Blättern von Carex muricata ausgekeimte Teleutosporen, auf heurigen Blättern frische Uredosporen. Durch diesen Befund wird der Erfolg meiner Infektionen bestätigt.

Wie ich schon früher bemerkte, hat Schröter durch Infektion den Zusammenhang der Puccinia tenuistipes Rostrup mit den Aecidien auf Centaurea Jacea bewiesen.

E. Fischer (25) zeigte dagegen, daß die Sporidien von seiner Puccinia Caricis montanae unter Umständen auch auf Centaurea Jacea Aecidien hervorbringen können.

Thatsächlich fand ich auch im Jahre 1901 am Berge Groß-Wostray bei Aussig a/E. dicht neben Teleutosporen auf Carex montana auch sehr zahlreiche Aecidien auf Centaurea Jacea.

Aus dem Angeführten ergeben sich für weitere Infektionsversuche folgende Fragen, welche ich im Frühjahre durch neue Infektionen lösen will:

1) Kann das Aecidium von Centaurea Jacea zugleich Carex muricata und C. montana infizieren?

2) Kann Aecidium lactucinum auch Carex montana infizieren?

3) Können die Sporidien meiner Puccinia von Carex muricata auf Centaurea Jacea Aecidien hervorbringen?

4) Können die Sporidien der Puccinia Caricis montanae auf Lactuca muralis und scariola Aecidien hervorbringen?

Ich halte vorläufig meine Puccinia für eine selbständige Art und gebe ihr den Namen **Puccinia Opizii** Bubák ad int., zum Andenken an den böhmischen Botaniker Philipp Maximilian Opiz, welcher seiner Zeit neben Corda der eifrigste böhmische Mykologe war. Die Diagnose lautet:

Puccinia Opizii Bubák ad int. — Aecidium lactucinum Lagerh. et Lindr., l. c.

Heteréupuccinia.

Aecidien[1]): Flecken rundlich, $^1/_2$—1 cm im Durchmesser, schmutzig rosenfarbig oder schwach rötlich (bei L. scariola auch gelb oder grünlich), von einer rötlichen oder gelblichen Zone umgeben. Spermogonien gerundet, ziemlich klein, auf der oberen Blattfläche der Flecken, manchmal auch unterseits zwischen den Aecidien mehr oder weniger zerstreut. Pseudoperidien ziemlich locker auf den Flecken gruppiert, kurz cylindrisch, mit weitem, breit zurückgeschlagenem, regelmäßig zerteiltem Rande; Pseudoperidienzellen in regelmäßigen Reihen, länglich vieleckig, isoliert 28—44 μ lang, 17—22 μ breit, feinwarzig, im radialen Durchschnitt meist schiefrhomboidisch; Außenwände 4—7 μ dick, quergestreift. Sporen orangefarben, kuglig oder eiförmig, fast immer eckig, 15,5—22 μ lang, 13—18,6 μ breit, mit hyaliner, dünner, dicht und fein warziger Membran und orangerotem Inhalt.

Uredolager auf den Blättern und Halmen auf kleinen, gelblichen Flecken, mehr oder weniger zerstreut, klein, oval bis länglich, zuerst von silberglänzender Epidermis bedeckt, erst später

1) Teilweise nach Lindroth, l. c.

der Länge nach entblößt, staubig, chokoladenbraun. Sporen sehr variabel kuglig, eiförmig, ellipsoidisch bis länglich, 17,6—33 μ lang, 17,6—22 μ breit, kastanienbraun, entfernt feinstachelig, mit zwei Keimporen.

Teleutosporenlager: Blätter und Halme ganz bedeckend, sonst wie die Uredolager, aber schwarz, fest, teilweise bis zum Frühjahre bedeckt bleibend, Teleutosporen birnförmig bis langkeulenförmig, 35,2—59,4 μ lang, 13,2—24,2 μ breit, in der Mitte mehr oder weniger eingeschnürt; Scheitelzelle eiförmig, ellipsoidisch bis länglich, kastanienbraun, oben abgerundet, abgestutzt oder kegelförmig verjüngt, daselbst 11—17,6 μ verdickt und dunkler, mit seitwärts unterhalb der Verdickung gelegenem Keimporus; Basalzelle meistens keilförmig in den Stiel verschmälert, gelblich, ihr Keimporus dicht unterhalb der Scheidewand; Stiel farblos, etwa so lang wie die Spore, fest.

Aecidien im Juni und Juli auf:

Lactuca muralis, in Böhmen: Bei Unter-Beřkovic (20. Juni); Teplitz (Thüm., Fung. austr. 637!); Groß-Wostray bei Aussig (23. Juni); Jedomělic bei Schlan (6. Juli); St. Joannes bei Prag (12. Juni); Turnau (16. Juni, Kabát)! — Mähren: Nemilkathal bei Hohenstadt (12. Juli);

Lactuca scariola: St. Joannes bei Prag (12. Juni).

Uredo- und Teleutosporen auf Carex muricata in Böhmen: St. Joannes (12. Juni 1902, vorjährige Teleutosporen und 2. Sept. 1902 frische Uredo- und Teleutosporen); bei Unter-Beřkovic (20. Juli 1902, vorjährige Teleuto- und neue Uredosporen); Jedomělic bei Schlan (6. Juli, wie am vorigen Standorte).

5. **Uromyces Scirpi** (Cast.) Lagerh.

Zu dieser Art gehören, wie durch Kulturversuche sichergestellt wurde, Aecidien von sehr verschiedenen Nährpflanzen:

1) Aecidium Glaucis Doz. et Molk. von Glaux maritima. Zusammenhang von Plowright bewiesen (Gardener's Chron. Vol. VII. London 1890. p. 682).

2) Aecidium Hippuridis Kunze von Hippuris vulgaris. (Siehe Dietel in Hedwigia 1890. p. 150.)

3) Aecidium Sii latifolii (Fiedler) Wint. von Sium latifolium. Zusammenhang von Dietel, l. c. bewiesen.

4) Aecidium Pastinacae Rostrup auf Pastinaca sativa. Zusammenhang von Rostrup vermutet (Botanisk Tidskr. Bd. XVII), durch Kulturversuche von Klebahn bewiesen (Zeitschr. f. Pflanzenkr. 1901. p. 193).

Herr Direktor Kabát fand im Jahre 1900 bei Welwarn in Böhmen in der Nähe von Uromyces Scirpi außer Aecidium Pastinacae noch ein Aecidium auf Berula angustifolia. Im Frühjahre 1901 unternahm er Infektionsversuche, um den Zusammenhang dieses Aecidiums (Aec. Berulae m.) mit Uromyces Scirpi zu beweisen.

Die Infektion wurde mit Teleutosporen durchgeführt, welche im Garten in einem Leinwandsäckchen den Winter über aufbewahrt

wurden. Das Infektionsmaterial wurde am 1. Mai auf junge, aus Samen erzogene Berula-Pflanzen gebracht. Am 8. Mai erschienen Spermogonien, später Aecidien, welche am 15. Mai vollkommen entwickelt waren.

Durch diesen Versuch hat also H. Kabát bewiesen, daß auch Aecidium Berulae in den Entwicklungskreis des Uromyces Scirpi gehört.

Im Jahre 1900 fand ich auf den Wiesen bei dem Žehuner Teiche in Böhmen neben teleutosporentragenden Blättern von Scirpus maritimus sehr zahlreich und sehr schön entwickeltes Aecidium Pastinacae Rostrup, welches ich in Sydow's Uredineen 1545 und in Vestergren's Micromycetes rariores im Winter 1901 austeilte, in letztgenannter Sammlung mit folgender Bemerkung: „Nach meinen Beobachtungen gehört dieses Aecidium zu Uromyces lineolatus (Desm.) Schröt.".

Auf der genannten Lokalität fand ich inmitten der äcidientragenden Pastinaken ein Exemplar von Daucus carota, dessen Blätter ebenfalls von Aecidien besetzt waren. Dieses Aecidium carotinum m. stimmt mit Aecidium Pastinacae vollkommen überein, so daß ich es auch in den Entwickelungskreis derselben Uromyces-Art ziehe.

6. Infektionsversuche mit Uromyces Poae Rabh.

Im Frühjahr 1901 sammelte ich in dem Zahořaner Thale (südlich von Prag) auf Ranunculus nemorosus ein Aecidium. Rings um die Ranunkeln standen viele Rasen von Poa nemoralis, deren Blätter dicht mit Uredolagern besäet waren, so daß ich an dem Zusammenhange beider Pilze nicht zweifeln konnte. Im Frühjahr 1902 sammelte ich daselbst teleudosporentragende Blätter der genannten Poa und führte mit dem Pilze Infektionsversuche auf Ranunculus nemorosus, repens, bulbosus und Ficaria durch.

Das Infektionsmaterial war vollkommen keimfähig. Die Versuchspflanzen wurden in Töpfe versetzt und die Infektion auf Ranunculus nemorosus und bulbosus 10 Tage, auf R. Ficaria und bulbosus 4 Tage nach dem Versetzen durchgeführt.

1. Versuchsreihe.

Die Infektion wurde am 16. April auf allen vier genannten Nährpflanzen durchgeführt. Auf Ran. ficaria und nemorosus erschien wider mein Erwarten kein Effekt. Auf Ran. repens und bulbosus entwickelten sich am 22. April Spermogonien auf einem Blatte, am 24. waren fast alle Blätter und Blattstiele mit Spermogonien besäet. Das Resultat entsprach vollkommen der Infektion. Reife Aecidien erschienen am 30. April.

2. Versuchsreihe.

Die Infektion wurde auf Ran. nemorosus und Ficaria am 22. April wiederholt und zwar auf anderen Individuen. Auch diese Infektion blieb resultatlos.

Es bleibt also unaufgeklärt, zu welchem Pilze die Aecidien auf Ran. nemorosus gehören.

Aus dem Versuche geht aber hervor, daß auch Uromyces Poae einige Anpassungsformen in sich schließt.

Prag, Anfangs November 1902.

Litteratur.

1) Winter, Pilze Deutschlands etc. I. p. 195.
2) Fuckel, Symbolae mycologicae. p. 376.
3) Arthur, Prelim. list of Jowa Ured. No. 60. p. 160 (nach De Toni).
4) Patterson Flora, A collect. of econ. and other Fungi. (U. S. Dep. of Agricult. Bur. of plant industr. Bull. S. No. 118. p. 13.
5) Diesel, Hedwigia 1889. p. 187.
6) Karsten, Finlands Rost- och Brandsvampar. Helsingfors 1881. p. 44—45.
7) Sydow, Beiträge zur Pilzflora der Insel Rügen. (Hedwigia. 1900. p. 119.
8) Rostrup, Tillaeg til „Groenlands Swampe". Kopenhagen 1891. p. 603.
9) Plowright, British Uredineae. p. 201.
10) Schröter, Pilze von Schlesien. Bd. I. p. 344.
11) Fuckel, Symbol. mycol. II. Nachtrag. p. 15.
12) Schröter, l. c. p. 381.
13) Winter, l. c. p. 224.
14) Plowright, British Uredin. et Ustilag. p. 203.
15) Schröter, Cohn's Beiträge zur Biol. d. Pflanzen. Bd. III. 1979. p. 70. — Pilze Schlesiens. Bd. I. p. 339.
16) Saccardo, Sylloge Fung. Bd. VII. p. 660—661.
17) Bagni, Monogr. Pucc. p. 75. Fig. 323—324 (citiert nach De Toni).
18) Lagerheim, Botaniska Notiser. Stockholm 1889. p. 170.
19) Beck, Verh. der zool.-bot. Ges. 1880. p. 11; 1889. p. 661.
20) Wettstein, ibid. 1885. p. 552.
21) Saccardo, Sylloge Fung. Vol. VII. p. 767.
22) —, Ibid. Vol. XIII. p. 1137.
23) Lindroth. Mykolog. Mitt. Helsingfors 1901. p. 19 ff.
24) Schröter, Pilze Schlesiens. Bd. I. p. 329.
25) Fischer, E., Entwickelungsgeschichtl. Untersuchungen über Rostpilze. Bern 1898. p. 23 ff.

Originalreferate aus bakteriologischen u. gärungsphysiologischen etc. Instituten, Laboratorien etc.

Nachdruck verboten.

Séance solennelle de rentrée de l'Université de Nancy, le 13 novembre 1902.

M. le Prof. Dr. **Paul Vuillemin** prononce un discours sur „L'association pour la vie".

Der Redner betont im Eingange seiner Darlegungen die Notwendigkeit, die in den Kliniken und Laboratorien auf analytischem Wege gewonnenen Ergebnisse zu einer fruchtbaren Synthese zusammenzufassen, um das Hochziel der medizinischen Wissenschaft zu erreichen, nämlich die möglichst vollkommene Kenntnis der Gesetze des Lebens zum Zwecke der Verminderung der Leidenssumme auf dieser Erde.

Die aus der Biologie entspringenden allgemeinen Ideen üben einen tiefgehenden Einfluß auf das soziale Leben aus. Der mensch-

liche Wille wird in der Biologie einen machtvollen Hebel, ein ausgezeichnetes Werkzeug des Fortschrittes finden, wenn der Soziologe die biologischen Gesetze zur Sicherung des Triumphs der Wahrheit und der Gerechtigkeit über die brutale Gewalt handhaben wird, ebenso wie der Ingenieur sich der geologischen und mathematischen Wissenschaften bedient, um verwüstende Sturzbäche und Fluten einzudämmen.

Der Kampf ums Dasein und die biologische Solidarität sind anscheinend zwei ganz entgegengesetzte Begriffe, von denen jeder einen Teil Wahrheit enthält. Thatsächlich begegnen wir einem Teil Synergie in denjenigen Konflikten der Lebewesen, wo der Antagonismus am meisten in die Augen fällt, und umgekehrt einem Teil Antagonismus bei den scheinbar ganz fest begründeten Verbänden. Das Rind hat sich in Europa erhalten, weil der Mensch es zu seiner Nahrung aufzieht; das Getreide würde längst fossil geworden sein, wenn der Mensch es nicht vor dem Untergang bewahrt hätte; ebenso würde Rozites gongylophora, dieser Pilz der Ameisenhaufen, längst nicht mehr existieren, wenn die Atta ihn nicht zu ihrer Nahrung kultivierten.

Die Helmintheneier, die Bakterien, die Pilze, welche mit den Exkrementen ausgeschieden werden, finden ein mächtiges Verbreitungsmittel in der Behendigkeit der Tiere, die sie verschlungen haben. Für eine Menge Parasiten ist es notwendig, gefressen zu werden, um in eine neue Phase ihrer Thätigkeit zu kommen. Der Parasitismus ist nicht bloß ein einfaches Phänomen des Antagonismus; er ist vor allen Dingen eine Vereinigungserscheinung, ein Leben zu zweien. Jeder der beiden Teilhaber bringt einige Veränderungen in das Leben des anderen, aber die anfängliche Störung strebt einem neuen Gleichgewicht zu, und der Parasitismus wird um so vollkommener, je mehr dieses Gleichgewicht erreicht wird. Außer dem Nutzen, den der Parasit aus dem Verhältnis zieht, kann man auch eine belebende Wirkung beobachten, die er auf seinen Wirt ausübt. Das Herauskommen der Lufttriebe von Euphorbia Cyparissias wird durch Uromyces Pisi beschleunigt; der Blätterfall von Vaccinium uliginosum wird durch Exobasidium verzögert. Die abgefallenen Blätter bewahren frische grüne Stellen dort, wo sich Peronospora, Erysiphe etc. eingefunden hatten. Die Ustilagineen veranlassen eine Rückbildung der Sexualorgane bei den sterilen Muscari, des Fruchtknotens bei der männlichen Aehre von Carex praecox, der Staubgefäße bei den weiblichen Blüten von Lychnis dioica. Die Heterodera radicicola macht es möglich, Gemüsepflanzen in der algerischen Sahara zu ziehen, indem sie die Wurzeln mit Wasserbehältern versieht. Die Hexenbesen, Kröpfe und Gallen bringen ebenfalls ein Uebermaß von Leben zum Ausdruck, was durch Parasiten hervorgerufen wurde.

Diese Phänomene werden als pathologische angesprochen, weil sie uns ungewohnt sind. Aber Erscheinungen derselben Ordnung erscheinen uns als specifische und normale, weil wir sie gewohnt sind. So ist es ein Charakteristikum der Orchideen, Pilze in ihren Wurzeln zu haben.

Die Samen gewisser Arten keimen nicht, wenn Parasiten fehlen. Die Leguminosen, die dem Rhizobium die Eigenschaft verdanken, den Stickstoffgehalt des Bodens zu erhöhen, keimen wohl ohne seine Hilfe, aber sobald die junge Pflanze die im Samen aufgespeicherten Vorräte verzehrt hat, verkümmert sie, um bis zu einem gewissen Grade nach dem Erscheinen der parasitären Knollen wieder aufzuleben.

Endlich bei der Flechte ist das Verhältnis von Alge und Pilz ein so intimes, daß man nicht mehr recht weiß, welcher von beiden den Namen des Wirtes oder des Schmarotzers verdient. Die Glieder dieser biologischen Verbindung haben die ihnen zustehenden Attribute in eben dem Maße verloren wie die konstituierenden Atome eines Moleküls. Und gerade dadurch, daß diese beiden schwächlichen Organismen, von denen das eine die Trockenheit ebenso fürchtete wie das andere das Licht, ihre elenden Daseinsbedingungen vereinigten, haben sie ihrem Leben die unfruchtbarsten Elemente der widerstrebenden Umgebung erobert.

In allen Fällen von Parasitismus finden wir bis zu einem gewissen Grade die gemeinsame Thätigkeit günstig für die beiden Associierten, welche sich in der idealen Flechte ganz rein darstellen würde.

Jeder lebendige Organismus ist eine Gesamtheit. Seine Elemente weisen dieselbe Abhängigkeit von einander auf wie die verschiedenen, durch Parasitismus verbundenen Individuen. Die Synergie der Zellen schließt den Antagonismus nicht mehr aus als der Antagonismus zwischen Wirt und Parasiten die Synergie ausschließt. Den Beweis hierfür liefert uns die unausgesetzte Regeneration des Organismus durch Phagocytose oder Autophagie.

Der Zusammenhang der Bakterien mit den Zellen des menschlichen Organismus regelt sich nach denselben Gesetzen wie der Zusammenhang der Zellen untereinander.

Gleich den anderen Parasiten zeigen die Bakterien in ihren Beziehungen zum Organismus des Menschen ein Gemisch von Antagonismus und Synergie. Der Antagonismus zeigt sich deutlich in krankhaften Erscheinungen, die Synergie nur in der vertieften Analyse der Phänomene des gemeinsamen Lebens von Wirt und Parasit.

Deshalb dachte man an dem Tage, wo die Bakterien als Erreger der Infektionskrankheiten erklärt wurden, nur an den Kampf ums Dasein wider die Mikroben. Als es den vereinigten Anstrengungen von Naturforschern und Aerzten gelang, die Biologie der Parasiten zu erforschen, konnten sie die heilkräftigen Eigenschaften der Bakterien nutzbar machen. Die Asepsis ersetzte die Antisepsis; die Präventivimpfungen, Injektionen von durch Auslese gewonnenen Bakterienprodukten, die Anwendung tierischer, durch Bakterienprodukte veränderter Sera leisten größere Dienste als die Verfolgung der Bakterien, die sich doch als Trugbild erweist. Mit einem Worte, der Arzt führt gegen den parasitären Antagonismus die parasitäre Synergie ins Treffen. Die Solidarität triumphiert über den Kampf.

In all den Beziehungen, welche die Biologie zwischen den Lebewesen und zwischen den Elementen eines jeden Wesens stu-

diert, erscheinen Antagonismus und Synergie wie die beiden Teile einer Wechselbeziehung. Das Gesetz des Kampfes und das der Solidarität zeigen 2 Seiten einer und derselben Sache. Aber der Kampf erzeugt kein Leben, seine unmittelbare Wirkung ist Lebensvernichtung, und es wäre richtiger, vom Kampf gegen das Dasein zu reden.

Das Regenerationsphänomen, das vollkommenere Existenzen auf dem verwüsteten Kampfplatz in die Erscheinung treten läßt, ist die Synergie, die alleinige Schöpferin des Lebens. Vieles ist über den Kampf ums Dasein und den Zusammenschluß zu diesem Kampfe gesagt worden; der Redner findet einen fruchtbareren Ausblick in dem Kampfe für den Zusammenschluß und den Zusammenschluß für das Leben.

Referate.

Petrow, N., Ueber einen neuen roten farbstoffbildenden Bacillus. (Arb. aus dem bakteriol. Inst. der techn. Hochsch. zu Karlsruhe. Bd. II. 1902. p. 273. Mit Taf.)

Der Bacillus trat als zufällige Infektion der Gelatine aus Luft auf. Verf. hat seine morphologischen und kulturellen Eigenschaften genauer studiert und gleichzeitig auch den abgeschiedenen roten Farbstoff untersucht. Aeußerlich bietet die Art viele Analogieen mit Bac. kiliensis, weshalb auch der Name B. subkiliensis gegeben wurde. Die Stäbchen sind 1—1,2 μ lang und 0,8 μ dick, die Geißeln sind zu 5—9 über den Körper zerstreut. Sporen wurden nicht nachgewiesen. Der Bacillus verflüssigt Gelatine und entwickelt nach etwa 4 Tagen im Centrum der Kolonieen einen roten Farbstoff. Auf Kartoffeln trifft die Rotfärbung schon nach 2 Tagen ein. In Nährbouillon bildet sich nach 3 Tagen eine Trübung und ein bedeutender Bodensatz, nach 8 Tagen entsteht an der Oberfläche eine hellrote Schicht, die sich beim Umrühren wieder auflöst. Nach 14 Tagen erscheint die ganze Bouillon rötlich. Bei wiederholter Ueberimpfung auf Agar wird die Farbstoffproduktion schwächer, sie erscheint jedoch sehr schön wieder, wenn einmal dazwischen auf Gelatine übergeimpft wird.

Zur weiteren Züchtung sind dann die verschiedensten Substrate herangezogen worden. Verf. geht darauf ausführlich ein. Am Schluß werden die Unterschiede von Bac. kiliensis und prodigiosus zusammengestellt.

Die Untersuchung des Farbstoffes ergab folgende Resultate: Das Pigment ist vollständig unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol, Xylol und Schwefelkohlenstoff. Die alkoholische Lösung hat eine granatrote Farbe und wird auf Zusatz einer der verdünnten Säuren (Schwefel-, Salz-, Salpeter- und Essigsäure) karminrot, sogar schwach violett. Auf Zusatz von rauchender Salpetersäure wird dieselbe zuerst gelb und dann fast farblos. Ammoniak und Kalilauge rufen in der Lösung eine goldgelbe Färbung hervor, die jedoch nach schwachem Ansäuern mit

verdünnter Salzsäure wieder durch die anfängliche rote Farbe ersetzt wird. Durch Chlorwasser wird dieselbe sofort entfärbt, ebenso durch Zinkstaub mit schwacher Essig- oder Salzsäure. Der durch Abdampfung der erwähnten Lösung des Pigmentes in absolutem Alkohol erhaltene trockene Rückstand nimmt bei der Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure eine rötlich-braune, bei der von konzentrierter Ammoniaklösung eine braun-gelbe Färbung an.

Lindau (Berlin).

Bokorny, Th., Verhalten der Aminotetrazotsäure gegen Hefe und andere niedere Organismen. (A. Brauer- u. Hopfenztg. 7. Juli 1902.)

$$NH_2.C \begin{matrix} \nearrow N.H \\ \searrow NH.N \end{matrix}$$

ist die Formel dieser von Thiele dargestellten Substanz. Sie hat ringförmige Bindung der Stickstoffatome.

Kann dieselbe als Stickstoffnahrung für Pilze etc. dienen?

Aus den angestellten Versuchen seien nur folgende hervorgehoben:

D. Kontrollversuch mit Ammonsalz als N-Quelle.

Aqua destillata	100,0 g
Rohrzucker (chemisch rein)	5,0 „
Ammonsulfat	0,5 „
Magnesiumsulfat	0,1 „
Monokaliumphosphat	0,2 „
Preßhefe von 0,31 Proz. Trockensubstanz	1,0 „

Nach 3-tägiger Versuchsdauer ergab die Trockensubstanzbestimmung 0,43 g, also eine beträchtliche Zunahme. Es ist ja auch lange bekannt, daß Ammonsalze der Hefe als N-Quelle dienen können.

Die Gärung war normal eingetreten.

Unter dem Mikroskop zeigten sich zahlreiche Sprossungen an den Hefenzellen.

E.

Aqua destillata	100,0 g
Rohrzucker (chemisch rein)	5,0 „
Aminotetrazotsäure	0,1 „
Magnesiumsulfat	0,1 „
Monokaliumphosphat	0,2 „
Preßhefe von 0,31 Proz. Trockensubstanz	1,0 „

Nach 24 Stunden noch lebhafte Gärung; nach 3 Tagen keine sichtbare Gärung mehr vorhanden; Flüssigkeit klar.

Unter dem Mikroskop zeigte sich am Schluß des Versuches, also nach 3 Tagen, nirgends Sprossung.

Die Trockensubstanzbestimmung ergab 0,31 g. Es war also keine Vermehrung der Trockensubstanz eingetreten.

F.

Aqua destillata	100,0 g
Rohrzucker (chemisch rein)	5,0 „
Aminotetrazotsäure	0,5 „

Magnesiumsulfat	0,1 g
Monokaliumphosphat	0,2 „
Preßhefe von 0,31 Proz. Trockensubstanz	1,0 „

Die Gärung trat bald ein und nahm den gewöhnlichen Verlauf. Nach 3 Tagen Flüssigkeit klar, angenehmer Gärungsgeruch.

Die Trockensubstanz nach 3-tägiger Versuchsdauer betrug 0,30 g, also keine Vermehrung.

Unter dem Mikroskop keine Sprossungen sichtbar.

Somit ergiebt sich, daß die Hefe, wenn sie Aminotetrazotsäure als einzige Stickstoffnahrung erhält, niemals ihre Trockensubstanz vermehrt, obwohl sie gesund bleibt, wenigstens bei nur 0,1 Proz. dieses Stoffes.

Die Versuche sind so angestellt, daß eine Ernährung leicht eintreten konnte; es war Gärung da infolge der Anwesenheit eines gärfähigen Zuckers. Die Gärung lieferte Energie für die Assimilationsleistung und brachte zugleich die Hefenzellen in immerwährende Berührung mit frischer Lösung.

Das negative Resultat ist also auf die Unfähigkeit der Hefe, Aminotetrazotsäure als Stickstoffnahrung zu verwenden, zurückzuführen.

Bei Algen erwies sich die Aminotetrazotsäure sogar als Gift mittlerer Stärke.

Diese Substanz kann also keinenfalls den Stickstoffquellen für Pflanzenernährung zugezählt werden. Autoreferat.

Reich-Herzberge, F., Ueber die Einwirkung von Trypsin auf Leim. (Zeitschr. f. physiolog. Chem. Bd. XXXIV. 1901. p. 119.)

Der Verf. stellte auf Anregung von Thierfelder von neuem Untersuchungen darüber an, ob die Angaben von Kühne richtig sind, daß Gelatine unter der Einwirkung von Trypsin weder Leucin noch Glycocoll liefert. Es wurde reinste Handelsgelatine verwandt; das Trypsin war von Merck bezogen. Die verdauten Flüssigkeiten wurden auf Aminosäuren hin geprüft: Dabei wurde nur Leucin in ganz geringen Mengen nachgewiesen, und zwar in keinem Falle mehr als einige Zehntelgramme. Nach den Untersuchungen des Verf.'s wird die Angabe Kühne's insofern bestätigt, als eine nennenswerte tryptische Spaltung des Leims nicht statthat; sie muß jedoch dahin modifiziert werden, daß eine geringe Leucinbildung immer nachzuweisen ist.

Heinze (Halle a. S.).

Rist, E. und Khoury, J., Studien über eine zum Genusse dienende, gegorene Milch, das „Leben“ Egyptens. (Ann. de l'Institut Pasteur. T. XVI. 1902. p. 65 ff.)

Man bereitet „das Leben“ in ganz ähnlicher Weise wie den Kefir. Die aufgekochte Milch läßt man auf ungefähr 40° C wieder abkühlen und versetzt sie alsdann mit etwas altem „Leben“, „Roba“ genannt. Im allgemeinen ist das Produkt nach ca. 6 Stunden fertig zum Genusse; im Winter dauert es etwas länger. Das fertige Produkt stellt ein weißes, ziemlich flockiges Gerinnsel dar,

und hat einen sehr angenehmen, frischen, säuerlich-süßen Geschmack und ein ganz eigenartiges Aroma. Serum tritt meist nur in sehr geringer Menge aus. Wenn jedoch das Produkt eine längere Gärung durchmacht, so vermehrt sich die Säure desselben außerordentlich stark und es wird schließlich so gut wie ungenießbar. Zum weitaus größten Teile besteht die vorhandene Säure aus Milchsäure. Außerdem wurden fast immer gewisse Mengen Alkohol aufgefunden. Wahrscheinlich verdankt dieser nach den Verff. seine Entstehung einer komplizierten Gärung, da keinerlei Schaumbildung infolge CO_2-Bildung beobachtet werden konnte. Uebereinstimmend wurden in mannigfachen Proben stets 5 Mikroorganismenarten gefunden, und zwar davon 2 Hefen und 2 Milchsäurefermente. Von den Verff. sind dieselben als Streptobacillus, Diplococcus, Saccharomyces, Mycoderma und Bac. Lebenis näher beschrieben worden. Für die Umwandlung der Milch scheint der letztere Organismus ohne wesentliche Bedeutung zu sein. Dieselbe wird von den anderen Organismen bewirkt, selbst wenn sie in Reinkulturen sterilisierter Milch zugegeben wurde. Die Umwandlung der Milch erfolgt besonders günstig, wenn zuerst die Blastomyceten sich hinreichend weit haben entwickeln können, bevor die Milchsäurefermente zugesetzt werden, bezw. ihre Thätigkeit beginnen. Von den letzteren wird auch ein koagulierendes Enzym gebildet. Von den Hefen wird zwar Glukose und Maltose, nicht aber die Laktose vergoren, wenigstens nicht für sich allein; dagegen vermögen sie den Milchzucker bei Gegenwart des Streptobacillus zu vergären, welcher auch bei dieser Gärung offenbar erst eine Spaltung dieses Zuckers in Dextrose und Galaktose bewirken dürfte. Im großen und ganzen hat man es hier mit ganz ähnlichen Verhältnissen in Beziehung auf die Thätigkeit der einzelnen Mikroorganismen zu thun, wie bei der Kefirgärung.

Heinze (Halle a. S.).

Haacke, Paul, Beiträge zur Kenntnis der quantitativen Zersetzung des Milchzuckers durch den Bacillus acidi lactici. (Archiv f. Hygiene. Bd. XLII. p. 16.)

Zu den Versuchen wurde ein aus der Rostocker Marktmilch isolierter Milchsäurebacillus verwendet, der mit dem Bacillus acidi lactici Hueppe identisch ist. 200 ccm 1-proz. Peptonmolke wurden mit frischer Bouillonkultur des Bacillus geimpft, bei 37° gehalten und gleich nach der Impfung, sowie jeden 5. Tag später an 25 ccm entnommener Probe untersucht, Von den entnommenen Proben wurden einmal durch Verdünnungen auf 3 Platten von Traubenzuckergelatine Zählungen der Keime vorgenommen; ferner nach Soxhlet der Milchzuckergehalt bestimmt. An einem Teil der Probe wurde die Milchsäure nach verschiedenen Verfahren titriert und auch chemisch nachgewiesen. Von Nebenprodukten wurde durch Destillation Alkohol nachgewiesen, während Aldehyd und Acetose fehlten; von Säuren wurde im Destillat Essigsäure eruiert, nicht aber Ameisensäure. Von den Gasen wurden Analysen nicht gemacht; CO_2 war reichlich vorhanden.

In zwei ersten Versuchen, in denen die hemmende Wirkung der Milchsäure durch Zusatz eines Neutralisierungsmittels nicht beeinflußt wurde, fand in den ersten 3 Tagen die stärkste Vermehrung der Bakterien statt; die Säure setzt ihrer Vermehrung ein Ziel, ja tötet sie, da nach 12 Tagen die Platten nahezu steril waren. Bindet man die gebildete Milchsäure durch Calciumkarbonat, so ist die günstige Wirkung aus der rapiden Abnahme des Milchzuckers ersichtlich gegenüber der in beiden ersten Versuchen bescheidenen Verminderung derselben. Vergleicht man die Kurve der Milchzuckerzersetzung mit derjenigen der gebildeten Milchsäure und ferner beide mit den gefundenen Keimzahlen, so sieht man sowohl die verschiedenen Kurven voneinander abweichen als auch dieselben Kurven für die einzelnen Versuche variieren.

Die Milchzuckerzersetzung hört im allgemeinen erst mit der völligen Zersetzung des vorhandenen Milchzuckers auf; der in den einzelnen Versuchen ungleiche Verlauf der Zersetzung scheint von der ungleichen Größe der Bakterienaussaat und -Vermehrung abzuhängen. Die letztere erreicht relativ früh ihren höchsten Grad, bleibt dann einige Zeit gleich, um schließlich so abzufallen, daß auf den Zählplatten nunmehr wenige Kolonieen auftreten.

Eigentümlich und in den einzelnen Versuchen verschieden verläuft die Kurve der Milchsäurebildung; sie geht weder parallel mit der Milchzuckerzersetzung noch mit der Bakterienvermehrung. In allen Versuchen ist die Menge der gebildeten Milchsäure sehr gering im Verhältnis zum zerzetzten Milchzucker, erreicht sie doch nur in einem Falle $^1/_3$, meist nur $^1/_7$—$^1/_6$ der theoretischen Milchsäuremenge. Der Nachweis von Alkohol, von CO_2 und von Essigsäure weckte den Verdacht, daß der Milchsäurebacillus außer der Zersetzung des Milchzuckers zu Milchsäüre auch noch eine Zerlegung der letzteren zu Alkohol und Kohlensäure bewirke, so daß die vorgefundene Essigsäure in der Oxydation des Alkohols Erklärung fände. Andererseits bestand die Möglichkeit, daß die Bakterien durch die reichliche CO_2-Menge und dem O-Mangel zur Essigsäurebildung geleitet würden. Diese letzte Frage wurde durch einen Durchlüftungsversuch dahin beantwortet, daß die CO_2-Anwesenheit die Bildung von Milchsäure nicht nachteilig beeinflußt. Der Versuch mit konstanter Durchlüftung erwies, daß anfänglich Milchzuckerzersetzung, Milchsäure- und Kohlensäureproduktion Hand in Hand mit einer rapiden Bakterienvermehrung verlaufen, und später mit der Abnahme der Bakterienzahl die Milchsäure auch abnimmt, während Milchzuckerzersetzung und Kohlensäurebildung weiter zunehmen.

So ist denn der Nachweis erbracht, daß der Milchzucker nicht allein in Milchsäure, sondern in eine Reihe auch anderer Stoffe zerlegt wird, und daß seine Zersetzung mittels Bindung der Milchsäure durch Kalk sehr gefördert wird. Spirig (St. Gallen).

Zikes, H., Zur Kenntnis der chemischen und biologischen Schwankungen im Gehalte der Brunnenwässer. (Mitteilungen der österr. Versuchsstation f. Brauerei und Mälzerei. 1902. Heft 10.)

Folgende Punkte werden als die wichtigsten Ergebnisse der vorgenommenen Untersuchungen hervorgehoben:

1) Die meteorologischen Einflüsse, wie Regen, äußern sich verschieden in der Zu- und Abnahme der gelösten Substanzen.

2) Der veränderlichste Bestandteil war bei sämtlichen untersuchten 4 Wasserproben die Schwefelsäure.

3) Weiterhin konnte auch eine eigentümliche Ablösung der Schwefelsäure durch Salpetersäure festgestellt werden.

4) Die Bestimmung der organischen Substanz ergab für 3 der untersuchten Wasser in den Herbstmonaten höhere Zahlen als zu anderen Jahreszeiten.

5) Bei der Bestimmung der einzelnen Bakterienarten boten die weißen hyalinen Gelatine nicht verflüssigenden, aus Kurzstäbchen bestehenden Kolonieen die größten Schwierigkeiten.

6) Auf Würzegelatine kamen zumeist nur Schimmelpilze zur Entwickelung; unter den Sproßpilzen wurde meistenteils Monilia, Rosahefe, Rosa mycoderma, Weinhefe, unter den Bakterien Bac. viscosus und Aërogenes-artige Mikroorganismen aufgefunden. Die Zerstörung von Würze wird hauptsächlich durch Bac. viscosus, Thermobakterien und Bact. fluorescens, die Zerstörung von Bier durch Bac. viscosus und Sarcina verursacht. Essigsäurebakterien wurden nur ganz ausnahmsweise angetroffen.

7) Bei fast allen untersuchten Wässern wurde der Bakteriengehalt im Sommer niedriger als in den kälteren Monaten gefunden.

8) Bei der Einteilung der in den einzelnen Wässern vorkommenden Bakterien konnten 3 Gruppen unterschieden werden: a) solche, die in größerer Zahl in jeder Probe bei allen Wässern vorkamen; b) solche, die in größerer Zahl jedesmal nur in einem bestimmten Wasser sich vorfanden; c) solche, welche nur vereinzelt, bald da bald dort zur Entwickelung kamen.

9) Unter den gefundenen Organismen kamen Schimmelpilze meistens im Herbste vor; Hefen traten nur sehr sporadisch und über das ganze Jahr verteilt auf. Mikrokokken fanden sich gewöhnlich nur vereinzelt vor und verblieben gegen die Stäbchenformen stets in der Minderzahl; noch viel seltener konnte die Anwesenheit von Sarcina festgestellt werden.

10) In zwei der untersuchten Wässer gelangten durchschnittlich in vorherrschender Zahl je 6 Arten, in den beiden anderen je 3 Arten zur Entwickelung.

11) Es wurden mehrere Organismen gefunden und besonders aufgeführt, die nach dem Verf. sich mehr oder weniger von bereits bekannten und beschriebenen unterscheiden: a) Bact. polychromicum; b) Bact. corrosivum; c) eine Gruppe verschiedene Nährsubstrate braun färbender Stäbchen; d) eine in Bier und Würze sehr gut gedeihende Kugelalge.

Heinze (Halle a. S.).

Lindner, P., Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben, mit einer Einführung in die technische Biologie, Hefereinkultur und Infektionslehre. Für Studierende und Praktiker. Dritte, neubearbeitete

Aufl. Mit 229 Textabbildungen und 4 Taf. Berlin (P. Parey) 1901.

Es ist bekannt, welchen großen Einfluß das Lindner'sche Buch schon in den ersten beiden Auflagen auf die Verallgemeinerung der Kenntnisse über die Gärungsorganismen, speziell diejenigen der Brauerei gehabt hat. Ein Zeichen dafür ist es auch, daß der ersten (1895) und zweiten (1898) Auflage so rasch die dritte folgt. In dieser ist das verarbeitete Material fast auf das Doppelte gestiegen, was sich in der Vermehrung des Textes auf 468 Seiten (gegen 278 der ersten Auflage) und den Abbildungen auf 229 (gegen 105) ausdrückt.

Die allgemeine Anordnung des Buches darf als bekannt vorausgesetzt werden. Die Einleitung ist um 2 Paragraphen: „Licht und Leben" und „Vom Auge und vom Sehen" vermehrt worden. Am meisten hat aber der zweite Teil, die mikroskopischen Uebungen, gewonnen, bei denen das biologische Moment viel stärker in den Vordergrund gerückt worden ist, als es bei den früheren Auflagen der Fall war. Vor allem ist es zu begrüßen, daß ein Abschnitt über die Enzyme der Gerste eingeschaltet ist, in dem der Wysmann'sche Maltase- und Granulase-Nachweis, sowie der Beijerinck'sche Glukosenachweis und das Verhalten der Enzyme bei der Keimung geschildert werden. Auch ein Paragraph über die Kartoffel und Hopfen ist neu. Wenn bei der Behandlung der Kartoffelkrankheiten, die durch Phytophthora infestans hervorgerufene Knollenfäule, weil nicht genügend begründet, weggelassen ist, so dürfte dieser Standpunkt wohl bei einer Neuauflage zu verlassen sein, da es keinem Zweifel unterliegt, daß die Phytophthora in sehr vielen Fällen einen mit Bräunung der Zellwände verbundenen Zerfall der Zellen hervorruft.

Auch die Kulturversuche und Untersuchungsmethoden sind weiter ausgestaltet, wie dies unter anderem die Aufnahme der Beijerinck'schen auxanographischen Methode zeigt.

In der Schimmelpilzkunde sind die Amylomyces-Arten hinzugekommen, in der Hefekunde ein ganzer, allgemeiner Teil, der in den früheren Auflagen recht gefehlt hatte.

Auch das Abbildungsmaterial ist wesentlich reichhaltiger geworden, so daß die neue Auflage einen bedeutenden Fortschritt gegen die vorhergehende bedeutet. Appel (Charlottenburg).

Olive, Edgar W., A preliminary enumeration of the Sorophoreae. (Proceed. of the Amer. Acad. of Arts and Sc. Vol. XXXVII. 1901. No. 12.)

Van Tieghem hat zuerst gezeigt, daß der von Brefeld entdeckte Myxomycet Dictyostelium ähnlich wie einige andere niedere Formen kein echtes Plasmodium besitzt, sondern daß die Amöben hier beim Zusammenströmen und der Bildung des plasmodienartigen Zustandes immer von einander abgegrenzt bleiben. Er hatte die Gruppe als Acrasieae den echten Myxomyceten gegenüber gestellt. Später hatte Zopf dieser Gruppe auch die merkwürdigen Labyrinthuleen angeschlossen, rhizopodenartige Organismen, die an Algen im Wasser leben, während der vegetativen

Zeit durch Aggregation der Amöben ein Pseudoplasmodium werden und später Sporen in formlosen Häufchen erzeugen. Mit den echten Acrasieae zusammen hatte Zopf die ganze Reihe als Sorophoreae bezeichnet.

Der Verf. giebt eine Uebersicht über sämtliche bisher beschriebene Arten der Sorophoreae. Er weist mit Recht darauf hin, daß bei der Beurteilung des sogenannten Plasmodiums der Acrasieen bisher übersehen worden ist, daß die Zusammenrottung der Amöben erst beim Beginn der Fruktifikation stattfindet, daß also dies Plasmodium für das vegetative Leben keine Bedeutung hat, demnach dem Plasmodium der echten Myxomyceten gar nicht homolog ist.

Einen großen Teil der von van Tieghem, Brefeld, Cienkowsky und Dangeard beschriebenen Acrasieen hat der Verf. in Cambridge und anderen Orten in Nordamerika wiedergefunden. Dictyostelium mucoroides ist dort gemein, dazu treten noch andere neue Arten derselben Gattung, Polysphondylium violaceum ist wiederholt gefunden und auch durch neue, ähnliche Arten vertreten.

Der Verf. verspricht eine ausführliche, von Abbildungen begleitete Monographie der ganzen Gruppe. Jahn (Berlin).

Dietel, P., Ueber die biologische Bedeutung der Paraphysen in den Uredolagern von Rostpilzen. (Hedwigia 1902. Beibl. p. 58. Mit 4 Fig.)

Während die Uredolager der Gattungen Phragmidium und Melampsora stets mit Paraphysen versehen sind, treten bei den Gattungen Uromyces, Puccinia und Ravenelia diese Gebilde nur bei wenigen Arten auf. Verf. wirft die Frage auf, welche Bedeutung die Paraphysen für den Pilz haben können und beantwortet sie dahin, daß durch sie das Lager vor Verdunstung geschützt werden soll. Die außerordentlich dicken, wasserreichen Stiele und Köpfe der Paraphysen sprechen für diese Deutung. Auch die eigentümliche Stellung der letzteren, daß sie über den Sporen sich zusammenneigen, würde dem Zwecke dienen, namentlich die jungen Sporen vor allzu schnellem Austrocknen zu schützen.

Lindau (Berlin).

Hennings, P., Fungi paraenses. (Bolet. do Mus. Paraense de Historia Nat. e Ethnogr. Vol. III. 1901. p. 231.)

Unter den von Huber gesammelten Pilzen befinden sich mehrere, die als Parasiten gewisse Beachtung beanspruchen. Außer einigen bereits bekannten Arten werden vom Verf. als neu beschrieben die folgenden: Puccinia Huberi auf Panicum ovalifolium, Meliola paraensis auf Vitex, Claviceps pallida var. orthocladae P. Henn. auf Orthoclada, Cordyceps olivaceo-virescens auf Insektenlarven, Phyllachora Huberi auf Hevea brasiliensis, Auerswaldia Guilelmiae auf Guilelmia speciosa, Leptosphaeria saccharicola auf Zuckerrohrblättern, Tryblidiella Loranthi auf Loranthus-

Arten, Septoria Spigeliae auf Spigelia antelminthica, Melasmia Loranthi auf Loranthus-Blättern.

Lindau (Berlin).

Hennings, P., Fungi costaricenses I a cl. Pittier missi. (Hedwigia. 1902. Beibl. p. 101.)

Außer einer Anzahl von bekannten Arten werden folgende neue parasitische Pilze nachgewiesen: Uromyces Pittierianus auf Rubus-Blättern, Uredo ochraceo-flavus auf Rubus-Blättern, Corticium dendriticum auf Orangenstämmen, Pleosphaerulina Cassiae auf Blättern von Cassia reticulata, Phyllachora Tonduzii auf Myrsine-Blättern, P. copeyensis auf Swartzia, P. graminis var. Panici sulcati auf Panicum sulcatum, Taphrina Tonduziana auf Pteris aculeata, Aschersonia Pittieri auf Citrus aurantium, Hainesia Aurantii, ebenda, Triposporium Aurantii, ebenda.

Lindau (Berlin).

Hennings, P., Fungi nonnulli novi ex regionibus variis. (Hedwigia. 1902. Beibl. p. 61.)

Verf. beschreibt eine Anzahl von neuen Pilzen, von denen hier nur die parasitischen Formen genannt sein sollen: Ustilago Mühlenbergiae auf Mühlenbergia Pringlei in Mexiko, U. Festucae tenellae auf Festuca tenella in Mexiko, Uromyces Mercurialis auf Mercurialis leiocarpa in Mexiko, Puccinia Premnae auf Premna macrophylla in Japan, Aecidium Berberidis ruscifoliae auf Berberis ruscifolia in Argentinien, A. Melananthi auf Melananthus dipyrenoides in Brasilien, Asterina Yoshinagai auf Quercus acuta in Japan, A. Violae auf Viola silvestris var. grypoceras in Japan, Micropeltis coffeicola auf Coffea arabica in Guatemala, Lizonia Perkinsiae auf Styrax roraimae in Guyana, Cryptosporella Macrozamiae auf Macrozamia Fraseri in Westaustralien, Dothidella yapensis auf Derris elliptica auf den Karolinen, Pseudopeziza Holwayi auf Gentiana in Mexiko, Isaria palmatifida und I. amoeno-rosea auf Chrysaliden in Brasilien, Fusarium Derridis auf Derrishülsen in Neu-Guinea, Uredo Jasoniae auf Jasonia glutinosa auf Cypern.

Lindau (Berlin).

Kramář, Udalrich, Studie über die Mykorrhiza von Pirola rotundifolia L. (Bulletin international de l'Académie des sciences de Bohême. VI. Prague 1901. p. 9—14. Mit einer Doppeltafel.)

Während die Mykorrhiza von Pirola minor die bekannte korallenähnliche Gestalt hat, sind bei Pirola rotundifolia die Träger der Mykorrhiza die sogenannten Saugwurzeln, d. h. die seitlichen Auszweigungen an den Achsen der Wurzel. Die Saugwurzeln haben die Form von keulenförmigen Knöllchen, die an ihrem Ende entweder stumpf sind oder in eine Achse von normaler Breite und mit normalem Vegetationspunkt plötzlich hinauslaufen.

Die Knöllchen haben mit den Mykodomatien der Leguminosen nichts gemein. Die epidermalen Zellen der Knöllchen sind im Innern derart von den Mycelfäden eines Pilzes vollgestopft, daß in den Zellen keine Spur von Plasma und Kern zu erkennen ist. An der Außenseite hat sich an der ganzen Peripherie ein „Mantel" aus ähnlichen Hyphenfäden gebildet. Eine reichliche Verbindung zwischen Mantel und den epidermalen Zellen durch Mycelfäden konnte nachgewiesen werden. Es liegt also bei Pirola rotundifolia eine endotrophe Mykorrhiza vor, die aber außerdem noch konstant einen äußeren Pilzmantel bildet, wie die ektotrophe Mykorrhiza der Cupuliferen, Coniferen etc. Auf die epidermalen Zellen folgt die äußerste Schicht der primären Rinde, welche einen zeitweiligen Sammelort vorstellt für das überschüssige, durch die Mycelfäden aus dem Substrat zugeführte Nährmaterial. Dadurch, daß die feinsten Mycelfäden auch in die epidermalen Zellen des Vegetationspunktes eindringen, erleidet auch dieser schon eine Hypertrophie. Die Wurzelhaube ist hier stark reduziert. Mit der fortschreitenden Hypertrophie nehmen die Kerne der Epidermiszellen an Größe zu; im Innern der Kerne aber fanden sich niemals Krystalle vor. Nur in den Nukleolen fanden sich oft Krystalloide vor. Deformationen der Kerne traten erst auf, als das Mycel sich in dem Zellinhalte anzusiedeln begann. Die Epidermiszellen an einem Knöllchen haben zuletzt keine physiologische Bedeutung mehr, sondern stellen ein mechanisches Gewebe dar, welches das Mycel in seinem Innern zu schützen hat. Der Mycelfaden wandert in die Epidermiszelle von der Ecke aus ein und nimmt die Richtung gegen den Zellkern; später bildet er um denselben einen Knäuel. Es spielt jetzt das Mycel die Rolle eines Parasiten; es entwickelt sich auf Kosten des Protoplasmas der Epidermiszellen. Erst bis das Zellinnere vollgepfropft ist mit den Mycelfäden, bildet sich der oben erwähnte Mantel, durch den die Wurzelhaare völlig unterdrückt werden. Die Oberfläche des Mantels ist glatt und sendet keine Einzelfäden in das umgebende Substrat aus. In die subepidermalen Schichten dringt das Mycel nie ein. Bezüglich der physiologischen Bedeutung der Mykorrhiza ist zu erwähnen: Das Mycel übernimmt die Funktionen der unterdrückten Wurzelhaare. Es handelt sich da namentlich um die organischen N-Verbindungen; vielleicht überläßt das Mycel auch einen Teil von seinen eigenen Assimilaten der Pflanze. Bevor die Saugwurzeln abgestoßen werden, bemächtigt sich die Pflanze noch vorher des Eiweißinhaltes des Mycels. Hier kann allerdings nur das physiologische Experiment entscheiden.

Matouschek (Reichenberg, Böhmen).

Hecke, L., Eine neue Krankheit der Wintergerste. (Zeitschrift für das landwirtschaftl. Versuchswesen in Oesterreich. 1902. p. 746.)

Die untersuchten Gerstenpflanzen zeigten eine Vergilbung der älteren Blätter, die teilweise sogar abgestorben waren. Bei den circa 6—8 cm hohen, Anfang April untersuchten Pflanzen fanden

sich am Grunde des Stengels zwischen Halm und Blattscheide kleine rundliche, gelbbraun gefärbte Körperchen vor, die als Pilzbildungen — Sklerotien — erkannt wurden und eine Aehnlichkeit mit den Sklerotien der Gattung Sclerotinia besaßen. Ihre Größe war höchstens 3 mm, doch sind größere Maße nicht ausgeschlossen. Im Innern sind sie farblos und bestehen aus dicht verflochtenen Hyphen ohne deutlich pseudoparenchymatischen Charakter. Eine eigene Rindenschicht ist nicht vorhanden, sondern die Sklerotien sind von einer dünnen, gelbbraun gefärbten cuticulaartigen Haut umhüllt, welche anscheinend durch Wandverdickung der äußersten Hyphenzellen entsteht. Diese Sklerotien sitzen oft in großer Anzahl an der Pflanze (bis 25 wurden gezählt), sind in ihrer Lokalisation durchaus nicht auf den Halmgrund beschränkt, sondern finden sich auch an den Wurzeln und steigen an den Blattscheiden bis zur Blattspreite empor; an dieser letzteren selbst scheinen sie nicht vorzukommen. Was nun den Parasitismus des Pilzes anbelangt, so neigt sich Verf. der Ansicht zu, daß es sich hier thatsächlich um einen parasitischen Pilz handelt, welcher allerdings möglicherweise nur als fakultativer Parasit Gerstenpflanzen befällt, die bereits infolge anderer Einflüsse gelitten haben. Die Identifizierung des Pilzes ist vorläufig noch nicht möglich, doch ist es immerhin wahrscheinlich, daß derselbe zur Gattung Sclerotinia zu stellen ist, welche eine Reihe parasitischer Spezies in sich schließt. Mit der bereits bekannten Sklerotienkrankheit der Grasblätter hat die vorliegende Krankheitserscheinung wohl nichts Gemeinsames, nachdem die ganzen äußeren Erscheinungen dagegen sprechen, doch ist nicht ausgeschlossen, daß auch dieser neue Gerstensclerotienpilz unter Umständen verheerend wirken kann.

Stift (Wien).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

San.-Rat Dr. Arthur Würzburg,

Bibliothekar im Kaiserl. Gesundheitsamte in Berlin.

Allgemeines über Bakterien und Parasiten.

Behla, R., Das bakteriologische Laboratorium bei der königl. Regierung in Potsdam. 30 p. gr. 8°. Berlin (Richard Schoetz) 1902. 1 M.

Wiley, H. W., Die Landwirtschaft in ihrer Beziehung zu den Bakterien und Fermenten. (Journ. of the Franklin Inst. Vol. CLIV. No. 2/3. — Ztschr. d. Vereins d. dtsch. Zucker-Industrie. 1902. Lief. 561. p. 831—843.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

De-Grandi, S., Celletta per l'osservazione e la coltura dei batteri anaerobi in goccia pendente. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1902. No. 22. p. 879—885.)

Eyre, J. W. H., Elements of bacteriological technique. London (Saunders) 1902. 8°. 10 sh. 6 d.

Kolmer, W. und **Wolf, H.**, Ueber eine einfache Methode zur Herstellung von dünnen Paraffinschnitten ohne Reagenseinwirkung. (Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XIX. 1902. Heft 2. p. 148—150.)

Kraus, R., Ueber einen Apparat zur bakteriologischen Wasserentnahme. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 6. p. 469—471.)

Legros, G., Isolement et culture des anaérobies. Procédé de l'huile de vaseline. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 33. p. 1337—1338.)

de M. Gage, St. und **Phelps, E.**, Untersuchungen von Nährböden zur quantitativen Schätzung von Bakterien in Wasser und Abwässern. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 12. p. 920—926.)

Nicolle, Ch., Sur un procédé très simple de culture des microbes anaérobies. Applications de la méthode. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 30. p. 1211—1213.)

de Rossi, G., Sulla colorazione delle ciglia dei batteri. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1902. No. 23. p. 907—922.)

Starlinger, J., Eine Neuerung am Reichert'schen Schlittenmikrotom. (Ztschr. f. wissensch. Mikrosk. Bd. XIX. 1902. Heft 2. p. 145—147.)

Turquet, J., Note sur un nouveau procédé de cultures cellulaires en mycologie. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 31. p. 1256—1258.)

Systematik, Morphologie und Biologie.

Bokorny, Th., Die proteolytischen Enzyme der Hefe. (Beihefte z. botan. Centralbl. Orig. Bd. XIII. Heft 2. p. 235—264.)

Butkewitsch, W., Umwandlung der Eiweißstoffe durch die niederen Pilze im Zusammenhange mit einigen Bedingungen ihrer Entwickelung. (Jahrbr. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXXVIII. 1902. Heft 2. p. 147—240.)

Catouillard, G., Sur un streptothrix chromogène. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. No. 31. p. 1249—1250.)

Chrétien, P., La cochylis austrinana. Nouvelle cochylis cécidogène. (Naturaliste. 1902. No. 377. p. 257—258.)

Cockerell, T. D. A., A contribution to the classification of the Coccidae. (Entomologist. 1902. Sept. p. 232—233.)

Cohn, L., Zwei neue Distomen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 12. p. 877—882.)

Czapek, F., Untersuchungen über die Stickstoffgewinnung und Eiweißbildung der Schimmelpilze. (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Ztschr. f. d. ges. Biochemie, hrsgeg. v. F. Hofmeister. Bd. II. 1902. Heft 10/12. p. 557—590.)

Fletcher, J. and **Gibson, A.**, The life-history of the variable cutworm, Mamestra atlantica. Grt. (Canad. entomol. 1902. No. 11. p. 279—284.)

Goldschmidt, R., Ueber Bau und Embryonalentwickelung von Zoogonus mirus Lss. [Vorl. Mitt.] (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 12. p. 870—876.)

Henri, V., Théorie générale de l'action de quelques diastases. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. Vol. CXXXV. 1902. No. 21. p. 916—919.)

Hollack, J., Zur Kenntnis der sexuellen Amphitypie bei Dicrocöliinen. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 12. p. 867—869.)

Kuwana, S. J., A new Coccid from California (Pseudolecanium distichum n. sp.) (Entomol. News. Vol. XIII. 1902. No. 5. p. 134—136.)

Laveran, A., Sur des culicides de Cochinchine et de l'Annam. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 33. p. 1332—1334.)

— —, Sur des culicides du Yunnan (Chine). (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 33. p. 1334—1335.)

Levy, E. und **Pfersdorff, F.**, Ueber die Gewinnung der schwer zugänglichen, in der Leibessubstanz enthaltenen Stoffwechselprodukte der Bakterien. (Dtsche med. Wchschr. 1902. No. 49. p. 879—880.)

v. Linstow, Eine neue Cysticercus-Form, Cysticercus taeniae Brauni Setti. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 12. p. 882—886.)

Looss, A., Notizen zur Helminthologie Egyptens. V. Eine Revision der Fascioliden-gattung Heterophyes Cobb. (Centralbl. f. Bakteriol. etc. I. Abt. Orig. Bd. XXXII. 1902. No. 12. 886—891.)

Magnus, P., Ueber die richtige Benennung einiger Uredineen nebst historischer Mitteilung über Heinrich von Martius Prodromus florae mosquensis. (Oesterr. botan. Ztschr. 1902. No. 11. p. 428—432.)

Michel, A., Sur des formes nouvelles ou peu connues de Rhabditis. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 21. p. 907—910.)

Neveu-Lemaire, Sur la classification des culicides. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 33. p. 1329—1332.)

Rosen, F., Die systematische Stellung der Spalt- und Schleimpilze. (Jahresber. d. Ges. f. vaterländ. Kultur. IIb. Abt. Bd. LXXVIII. 1902. p. 68.)

Sajó, K., Zur Entwickelung der Kirschfliege. (Prometheus. 1902. No. 679. p. 33—34.)

Scherrer, A., Unsere heutigen Anschauungen über die alkoholische Gärung. (Proskauer Obstbau-Ztg. 1902. No. 9. p. 129—137.)

Stiles, Ch. W., Eimeria Stiedae (Lindemann 1865), correct name for the hepatic coccidia of rabbits. (Elev. miscellan. pap. Anim. paras. 1902. p. 18.)

Trouessart, E., Deuxième note sur le Gamasus auris, type d'un genre nouveau (Raillietia). (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 33. p. 1335—1337.)

Truthán, A., Erfahrungen mit dem Bauer'schen Hefeverfahren. (Wien. landwirtschaftl. Ztg. 1902. No. 84. p. 718.)

Turquet, J., Sur le mode de végétation et de reproduction de l'Amylomyces Rouxii, champignon de la levure chinoise. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 21. p. 912—915.)

Vuillemin, P., L'espèce et la détermination des parasites. (Rev. méd. de l'Est. 1902. 1. juillet.)

Weis, F., Studier over proteolytiske enzymer i spirende byg (malt). 8°. Kopenhagen (Hagerup) 1902. 6 kr.

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zur unbelebten Natur.

Boden.

Voorhees, E. B., Studies in denitrification. (Journ. of the Amer. chem. soc. 1902. No. 9. p. 785—823.)

Luft und Wasser.

Kemná, A., Zur Biologie der Sandfiltration. (Ber. d. dtsch. pharmac. Ges. 1902. Heft 8. p. 310—314.)

Pagliani, L., Acque di fognatura dei centri abitati. Loro depurazione ed utilizzazione. (Riv. d'igiene e san. pubbl. 1902. No. 20—22. p. 757—764, 805—817, 853—867.)

Thomann, O., Untersuchungen über das Zürcher Grundwasser mit besonderer Berücksichtigung seines Bakteriengehaltes. (Vierteljsschr. d. naturf. Ges. in Zürich. 1902. p. 73—114.)

Nahrungs- und Genußmittel im allgemeinen, Gebrauchsgegenstände.

Fleisch.

Altschüler, E., Die Konservierung des Hackfleisches mit (neutralem) schwefligsaurem Natrium und einige Bemerkungen über die Beurteilung des Zustandes von Hackfleisch. [Diss.] 66 p. 8°. Straßburg (Josef Singer) 1902. 1,50 M.

Franke, M., Fleischdämpfer mit Wasserankochung zur sofortigen Erzeugung eines Gerinnungsmantels um das Fleisch und Herstellung eines ungesättigten, Wasserdampf enthaltenden, luftfreien Sterilisationsraumes. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1902/3. Heft 1. p. 7—9.)

Gröning, G., Nachweis des Pferdefleisches durch ein spezifisches Serum. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhyg. 1902/3. Heft 1. p. 1—4.)

Jess, Die spezifischen Sera und ihre Verwertung bei der Fleischunterscheidung. (Berl. tierärztl. Wchschr. 1902. No. 46. p. 701—706.)

Milch, Molkerei.

Klimmer, M., Untersuchungen über den Keimgehalt der Eselinmilch, über die Bakterien vernichtende Eigenschaft der unerhitzten Eselin- und Kuhmilch und über die Produkte der gasigen Gärung der Eselinmilch. (Ztschr. f. Tiermed. Bd. VI. 1902. Heft 3. p. 189—218.)

Massat, E., Les microbes du lait. (Naturaliste. 1902. No. 373. p. 211—214.)

Bier, Brauerei.

Lapp, V., Verfahren zur Vergärung von untergärigem Bier, insbesondere in verhält-

nismäßig großen Mengen auf einmal. D. R.P. No. 134 671. (Dtsch. Brau-Industrie. 1902. No. 52. p. 616.)

Schönfeld, F. und **Rommel, W.**, Untersuchungen über ein Trübungen im Lagerbier verursachendes Stäbchen-Bakterium (Bacillus fasciformis). (Wchschr. f. Brauerei. 1902. p. 585—588.)

Wein, Weinbereitung.

Bouffard, A., Les casses des vins et leurs traitements. Casse brune ou oxydasique. Casse bleue ou ferrique. Casse blanche. (Annal. de l'école nat. d'agricult. de Montpellier. T. II. fasc. 1. 1902. p. 4—36.)

Causse, L., Vinification en rouge de la vendange souillée de pourriture. (Rev. de viticult. 1902. No. 465. p. 537—540.)

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

König, J., Ueber das Fadenziehendwerden des Brotes. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1902. Heft 22. p. 823—827.)

Beziehungen der Bakterien und Parasiten zu Pflanzen.

Harmlose Bakterien und Parasiten.

Bernard, N., Conditions physiques de la tubérisation chez les végétaux. (Compt. rend. de l'acad. d. scienc. T. CXXXV. 1902. No. 17. p. 706—708.)

Buhlert, H., Ein weiterer Beitrag zur Frage der Arteinheit der Knöllchenbakterien der Leguminosen. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1902. Heft 23. p. 852—853.)

Molliard, M., Sur l'action des microorganismes dans la formation d'un tubercule chez le radis. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. No. 29. p. 1165—1167.)

Thiele, R., Ein Beitrag zur Impfung der Leguminosen mit Nitragin. (Ztschr. der Landwirtschaftskammer d. Prov. Schlesien. 1902. Heft 43. p. 1311—1312.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie, Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Wien, Prof. Dr. **J. Behrens** in Augustenberg, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Lindau** in Berlin, Prof. Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Prof. Dr. **M. C. Potter**, Durham College of Science, Newcastle-upon-Tyne, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D.C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Königsberg i. Pr., Prof. Dr. **Wehmer** in Hannover, Prof. Dr. **Weigmann** in Kiel und Prof. Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Berlin W., Schaperstr. 2/3 I.

und

Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

IX. Band. Jena, den 31. Dezember 1902. **No. 26.**

Jährlich erscheinen zwei Bände zu 26 Nummern. Preis für den Band 15 Mark.
Preis für eine einfache Nummer 80 Pfg., für eine Doppelnummer 1 Mark 60 Pfg.
Nummern mit Tafeln kosten 60 Pfg. für jede Tafel mehr.

Hierzu als regelmäfsige Beilage die Inhaltsübersichten der I. Abteilung des Centralblattes.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band IX enthaltenen Arbeiten.

II. Namen und Sachregister.

III. Verzeichnis der Abbildungen.

IV. Neue Litteratur.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.